

厚生労働科学研究費補助金

化学物質リスク研究事業

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

（H27-化学-指定-005）

平成 27 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 本間正充

平成 28（2016）年 4月

目 次

I. 総括研究報告書（別添 3）

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_____	1
本間 正充	

II. 分担研究報告書（別添 4）

エームス変異原性の予測精度の向上に関する研究_____	9
本間 正充	

In vivo 遺伝毒性試験 QSAR の開発

In vivo 遺伝毒性試験のデータベース構築と発がん性感受性の検証_____	2 3
森田 健	

構造活性相関モデル構築手法の比較と利用に関する研究_____	6 9
小野 敦	

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_____	7 9
広瀬 明彦	

III. 研究成果の刊行に関する一覧表（別添 5）_____ 9 3

IV. 研究成果の刊行物・別刷_____ 9 5

**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
（H27-化学-指定-005）**

研究代表者 本間 正充 国立医薬品食品衛生研究所変異遺伝部 部長

研究要旨

現在、世の中には数万種に及ぶ既存化学物質が安全性評価未実施のまま流通しており、それら化学物質のリスク管理は、世界的な課題となっている。本研究では、規制の対象となるすべての化学物質のヒト健康リスクを評価するためのインシリコ手法を確立することを目的とする。具体的には、カテゴリーアプローチと、構造活性相関（QSAR）手法により、各種毒性エンドポイントを定性的、もしくは定量的に予測する手法を開発、改良し、化学物質のヒト健康リスク評価に利用することを実現させる。

エームス試験に関しては、これまで構築してきた大規模データベース利用し、予測精度の向上を目指した競争的国際共同研究を組織した。H27年度は3,950化学物質のエームス変異原性の予測に世界7カ国のQSARベンダーが提供する16のQSARモデルが挑戦した。*In vivo*小核試験では379物質、トランスジェニック遺伝子突然変異試験では80物質からなる大規模*in vivo*遺伝毒性試験データベースを構築し、発がん感受性および*in vitro/in vivo*試験間の一貫性を評価した。今後、これらの知見をQSARモデルに組込む。

反復投与毒性については、無毒性量評価において、類似物質についての毒性情報が得られておらず化学構造のみからの評価が困難と判断される化学物質について、基本的な化学構造的特徴と短期毒性試験結果をもとにした毒性クラス判定の可能性について検討を行い、特定の化学構造的特徴を有する化学物質に限定すれば、予備試験レベルでの短期試験により無毒性量を外挿評価可能であることが示された。

また、肝毒性の評価に関しては、これまでの公表論文等のメカニズム情報を基に肝毒性アラートを作成する手法に代わる新たなアプローチとして、肝毒性に関連するkey eventを予測し、生体内経路の攪乱に關与する化合物群のプロファイルと組み合わせることによる肝毒性の予測モデルの作成を行った。Key Eventを特定するために、*in vitro* 肝毒性データから MIE（molecular initiating event）を特定し、有害転帰経路（Adverse Outcome Pathway; AOP）に位置付けた。さらに、AOP wikiに収載された情報を用いてkey eventとAOPとの相関関係を構築した。

キーワード：定量的構造活性相関(QSAR)、カテゴリーアプローチ、データベース、遺伝毒性、反復毒性、肝毒性

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

小野 敦

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

A. 研究目的

化学物質の規制に関わる国際機関や、各国規制当局の最近の関心の焦点は、規制の対象となるすべての化学物質を実験的に試験することなく、有害作用を引き起こす化学物質を同定するための単純なスクリーニングツールを確立することにある。構造活性相関、およびカテゴリーアプローチは、コンピュータトキシコロジーの重要な研究分野であり、有害作用を引き起こす可能性が高い化学物質を、その化学構造から*in silico*で予測する手法である。これら手法は統合型毒性評価系の重要な構成要素の1つであり、安全性評価が必要とされる化学物質の優先順位付けや絞り込みに有用である。また、毒性試験における動物利用の大幅な削減にも貢献できる。

本研究では、化学物質のヒト健康リスク評価の効率化や動物愛護の観点から定量的構造活性相関(QSAR)やカテゴリーアプローチ手法の化学物質評価における実用化を目的として、それぞれについて規制へ適用可能な手法を構築および改良を行うとともに、最終的に得られた成果を基にした評価戦略の提案を行うことを目的としている。本年度は、これまでの研究成果を生

かし、QSARやカテゴリーアプローチ手法の実用化に向けて予測精度の向上を目指す。

エームス変異原性に関しては、これまで我が国で行われたエームス試験データを収集し、大規模データベースを再構築してきた。本データベースもつ化学物質の種類は世界最大規模になると予想され、かつ、個々の試験はOECDガイドラインに従い、GLP管理下で行われた試験であるため、信頼性の高いデータベースである。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共同研究を開始した(本間)。

染色体異常誘発性については、*in vitro*試験で陽性だが*in vivo*試験では陰性となるケースが多く知られている。そのため、より精度の高い染色体異常予測率を示すQSARモデルの構築には、*in vivo*試験の発がん物質感受性を評価し、*in vitro*と*in vivo*試験間のギャップの要因を検証する必要がある。そのため、CGXデータベースに、小核試験(MN)と、トランスジェニック遺伝子突然変異試験(TGR)の2種の*in vivo*遺伝毒性試験を加えた拡張版CGXを構築し、各試験の感受性/特異性を評価する。さらに、遺伝毒性指標を同じくする*in vitro/in vivo*試験間のデータ比較から、より信頼性の高い遺伝毒性試験QSARの開発を目指す(森田)。

反復投与毒性については、化学構造からの予測評価手法の実用化に向けて、評価対象とする化学物質について既知情報からの評価の可能性を判定するスキームを構築し、判定結果に応じて、化学構造を指標として可能な限り効率的なリスク評価スキームを構築することを目指す(小野)。

臓器別の毒性予測に関しては、これまでの公表論文等のメカニズム情報を基に肝毒性アラートを作成する手法に代わる新たなアプローチとして、肝毒性エンドポイントに関連するkey eventモデルを予測し、生体内経路の攪乱に關与する化

合物群のプロファイルと組み合わせることによる肝毒性の予測モデルの作成を行った（広瀬）。

B. 研究方法

B.1. エームス変異原性の予測精度の向上（本間）

安衛法によって実施された約23,000化学物質のエーム試験結果を精査し、QSARの開発に有用である12,451化学物質（内エームス陽性1,776化合物）をデータベース化した。そのうち3,950化合物のデータを共同研究のPhase Iデータとした。これらエームス試験の結果以下の3つに分類される。

- A判定：エームス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：エームス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：エームス試験における陰性判定物質

世界7カ国、11のQASRベンダーが共同研究に参画した。合計16のQSARツールが評価に提供され、Phase Iトライアルにチャレンジした。

B.2. In vivo遺伝毒性試験QSARの開発（森田）

対象化学物質はカーランドらのCGX データベースを基にした。データ収集には、総説、国際的的化学物質評価文書、NTP データベースおよびPubMed等を用いた。試験結果は以下の4つに分類した。すなわち、+：陽性、-：陰性、E（不明確）およびTC（技術的に問題あり）。TGRにおける陽性は「少なくとも1つの発がん標的部位で陽性」、陰性は「TGRで評価したすべての発がん標的部位で陰性」とした。なお、*in vitro* CAにおいて、10 mM超および2 mg/mL超の濃度での陽性の知見は、これまでの研究成果に基づき陰性と判断した。

B.3 構造活性相関モデル構築手法の比較と利用に関する研究（小野）

既存化学物質安全性点検事業により、反復投与毒性試験（28日間試験もしくは反復投与生殖発生併合試験）が実施された化学物質について、本試験に先立って実施された予備試験の概要と本試験・予備試験それぞれにおけるNOAEL、LOAEL及び主な毒性所見を整理して、予備試験結果と本試験結果との比較解析及び基本的な物性や毒性クラス分類との相関について解析を行った。

B.4. 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（広瀬）

肝毒性に関連する経路およびKey Eventを特定するために、*in vitro* 肝毒性データを収集したMIP-DILIプロジェクトの研究成果を基礎としてMIE（Molecular Initiating Event）を特定し、有害転帰経路（Adverse Outcome Pathway; AOP）に位置付けた。さらに、AOP wikiに収載された情報を用いてkey eventとAOPとの相関関係を構築した。概念実証プロファイラーの作成には2種類のアプローチ（Derek Nexusのアラートパターンの利用とkey eventに関連する公開*in vitro* アッセイデータに関連する化合物群との構造的類似性を利用したリードアクロス法）を採用した。次にkey eventモデルと化合物プロファイラーを関連づけ、KNIME解析プラットフォームを用いて肝毒性の予測性能を評価した。

C. 結果

C.1. エームス変異原性の予測精度の向上（本間）

2014年12月までに11機関に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。2015年9月末までに参加機関のQSARツールによるエームス試験判定予測結果を回収し、予測精度を評価した。

基本的な能力評価はA-Sensitivity、AB-Sensitivity、Specificityを用いた。A-Sensitivityは強いエームス陽性化合物を陽性判定する率で有り、規制側はこの値を最も重要視する。Specificityはエームス陰性化合物を陰性と

判定する率で、化学物質や、医薬品の開発にはこの数値が高いことが望まれる。最も高いA-Sensitivityを示したものはイタリアのマリオネギリ研究所のVEGA+MNとマルチケース社のCase-ULTRA(rule based)であった(ともに81.3%)。

今回の3,950化学物質には183の強いエームス陽性化合物が含まれる(A判定)。しかしながら、このうち8化合物については、16のQSARツールの全てが陰性を示した。これら化合物は”False Negative(偽陰性)”と考えられる。一方、3,380化合物はエームス陰性である(C判定)。しかしながら、このうち10化合物については、16のQSARツールの全てが陽性の判定をした(False Positive; 偽陽性)。

C.2. In vivo遺伝毒性試験QSARの開発(森田)

In vivo MNでは379物質、TGRでは80物質のデータが認められた。感受性/特異性は、in vivo MNで41.0%/60.5%、TGRで72.4%/nc、エームス + in vivo MNで68.7%/45.3%、エームス + TGRで83.8%/ncであった。3試験を組合せた場合の感受性は、80%超であった。In vitro/in vivo一致性は、in vivo MNとin vitro CAで50.3%、TGRとエームス試験で79.5%であった。27物質がin vitro CA陰性でin vivo MN陽性を示し、5物質がエームス試験陰性でTGR陽性、10物質がエームス試験陽性でTGR陰性を示した。

C.3 構造活性相関モデル構築手法の比較と利用に関する研究(小野)

特定の化学構造的特徴を有しており14日間予備試験でNOAELが求められている物質については、14日間NOAELの組み合わせで、スクリーニングレベルの評価が可能であることが示された。さらに、化学構造から計算可能な基本的な物性とCremer毒性分類との組み合わせにより評価対象物質を限定することでより信頼性の高い評価が可能であることが示された。

C.4 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(広瀬)

反復投与毒性データセットを作成したプロファイラーで処理して毒性予測を行った結果、感度は57%で、特異度は44%となった。さらに、高濃度でしか肝毒性を示さなかった化合物としてLOAELが1000 mg/kg超または250 mg/kg超となる化合物を除外するとモデルの感度はそれぞれ63%および71%に向上することが示された。さらに、物理化学的な記述子のカットオフとして分子量の480未満またはClogP-5超を利用したところ、感度を同程度に維持したまま特異度が44%から58%に向上させることができた。

D. 考察

D.1. エームス変異原性の予測精度の向上(本間)

今回の3,950化合物の予測精度に関しては、ICH-M7を契機にエームス試験の予測性の向上に積極的に取り組んでいるラーサ社、マルチケース社、リードスコープ社のQSARツールの予測性に期待が持たれた。3社は、知識ベース、統計ベースの両者のモデルを有する。概して、3社のツールはSensitivity、Specificityともバランスがよく、75~82%の一致率(Correspondence)を示した。一方、規制当局が懸念するA-Sensitivityに関しては、イタリアのマリオネギリ研究所のVEGA、およびVEGA+MNモデルが80%以上の検出率を示したが、一方Specificityは70%以下で有り、偽陽性が多くなることが懸念された。REACH(EU)、TSCA(米国)、化審法(日本)等の化学物質の管理のシーンでは実際の試験対象物質のスクリーニング、もしくは優先順位付けに有効かもしれない。

A-Sensitivityが低いツールとして、スイスのAZMES、スペインのSymmetry、ブルガリアのAMBIT、日本のADMEWORKSが挙げられる。これらのA-Sensitivityは60%以下で有り、多くの危険な化学物質を偽陰性と判断する可能性がある。

る。今後の、改良が望まれる。

ほとんど全てのQSARツールの全てが陰性と間違っ判定した化学物質が全体の強いエームス陽性化学物質の10%も存在したことは、これらのQSARツールがまだ未熟であることを示すと同時に、本プロジェクトの意義が明確になった。すなわち、様々な構造を有する化学物質の試験結果をデータベース化し、エームス陽性のケミカルスペースを拡大することが、偽陰性を減らすことに繋がるものと確信する。また、偽陽性も多く見つかった。警告アラートとは別に、それらアラートを修飾する部分構造や、トキシコフォープを同定することが偽陽性の削減に役立つが、それに対しても多くの化学物質の情報が必要である。

D.2. *In vivo* 遺伝毒性試験QSARの開発 (森田)

In vivo MNの感受性は、*in vitro*試験より低かったが特異性はエームス試験に次いで高かった。TGRの感受性はエームス試験よりも高く、他の*in vitro*試験と同程度であった。エームス+ *in vivo* MN + TGRは高い感受性を示し、ICH S2(R1)のオプション2は、有効であることが示唆された。より精度の高いQSARの開発には、*in vitro* CA陰性で*in vivo* MN陽性の物質の特徴やそのメカニズムの検証、ならびに発がん標的臓器と遺伝子突然変異標的臓器の相違の要因(動物種、系統、投与期間、投与経路、化学物質の吸収や代謝など)の検討が必要と考えられる。

D.3. 構造活性相関モデル構築手法の比較と利用に関する研究 (小野)

予備試験では、病理組織学的検査や血液生化学検査が実施されていない場合も多いが、それらの検査を実施することでより正確な評価(予測)が可能であり、類似物質についての毒性情報が得られておらず化学構造のみからの評価が困難と判断された化学物質について、基本的な化学構造的な特徴と短期毒性試験結果をもとに毒性クラスの効率的な判定が可能であると考察された。

D.4. 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 (広瀬)

今後の研究として感度と特異度の両方を向上させるためには、偽陰性や偽陽性の化学物質クラス解析等を行うことによって、様々なkey eventを予測する方法をさらに調査することが有用であることが示された。

E. 結論

エームス変異原性の予測精度の向上に関しては、エームス試験予測QSARモデルの向上を目指した国際共同研究を開始した。日本で実施された安衛法に基づくエームス試験データから、QSARモデルの開発に有用と考えられる12,000化学物質のをデータベース化した。H27年度はこのうち3,950化合物について、エームス試験結果の予測精度を競うPhase Iトライアルを行った。世界7カ国から、11のQSARベンダーがこの国際競争に参画し、16のQSARツールについて予測精度の評価を行った。多くのQSARツールの精度は高いものであったが、強い陽性化合物を適切に陽性と判定する能力のさらなる向上が望まれた。また、ほとんど全てのQSARツールで検出できない強いエームス陽性化合物が多く同定された。これら化合物は新規の変異原性アラートを有することが考えられる。多くの外部データで試験を行い、できるだけケミカルスペースを拡大させることが、QSARの予測精度の向上に繋がるものと考えられる。

*In vivo*遺伝毒性試験に関しては、これまでにない大規模な試験データベースを構築した。*In vivo* MNの感受性/特異性は41.0%/60.5%、TGRの感受性は72.4%であった。エームス+ *in vivo* MNでは68.7%/45.3%、エームス+ *in vivo* TGRでは83.8%/ncであった。また、*in vitro/in vivo* 試験の一致性は、*in vivo* MNと*in vitro* CAで50.3%、TGRとエームス試験で79.5%であった。これらの*in vivo*知見あるいは*in vitro/in vivo*試験間の相違に関する知見をQSARに組込むことが精度向上に

必要である。

反復毒性については、単一のモデルやルールで全ての化学物質について評価を行うアプローチよりも、化学物質ごとに入手可能な類似物質の情報をもとに適用可能な評価手法を選択して評価を行う評価スキームのほうが化学物質規制における実用性は高いと考えられる。

また、肝毒性に関してはkey Eventを特定するために、*in vitro* 肝毒性データを収集したMIP-DILIプロジェクトの研究成果を基礎としてMIEを特定し、有害転帰経路AOPに位置付けた。Key eventとAOPとの相関関係を構築は毒性評価の新しい可能性をもたらすものとする。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

誌上発表

Barber C, Amberg A, Custer L, Dobo KL, Glowienke S, Van Gompel J, Gutsell S, Harvey J, Honma M, Kenyon MO, Kruhlak N, Muster W, Stavitskaya L, Teasdale A, Vessey J, Wichard J; Establishing best practise in the application of expert review of mutagenicity under ICH M7. *Regul Toxicol Pharmacol.*, 73, 367-377 (2015)

Canipa S, Cayley A, Drewe WC, Williams RV, Hamada S, Hirose A, Honma M, Morita T; Using *in vitro* structural alerts for chromosome damage to predict *in vivo* activity and direct future testing. *Mutagenesis*, 31, 17-25 (2015)

Petko IP, Patlewicz G, Terry, Schultz W, Honma M, Todorov M, Kotov S, Dimitrov SD, Donner M, Mekenyan OG; A feasibility study: Can information collected to classify for mutagenicity be informative in predicting

carcinogenicity? *Regul. Tox. Pharm.*, 72, 17-25 (2015)

Morita T, Hamada S, Masumura K, Wakata A, Maniwa J, Takasawa H, Yasunaga K, Hashizume T, Honma M; Evaluation of the sensitivity and specificity of *in vivo* erythrocyte micronucleus and transgenic rodent gene mutation tests to detect rodent carcinogens. *Mutation Research*, 802, 1-29 (2016)

Morita T, Uno Y, Honma M, Kojima H, Hayashi H, Tice RR, Corvi R, Schechtman L, The JaCVAM International Validation Study on the *in vivo* Comet Assay: Selection of Test Chemicals. *Mutation Research*, 786-788, 14-44 (2015)

森田 健 ; LD50値による毒性評価手法の変遷、*中毒研究*, 28, 388-391 (2015)

Hirata-Koizumi M, Fujii S, Hina K, Matsumoto M, Takahashi M, Ono A, and Hirose A; Repeated dose and reproductive/developmental toxicity of long-chain perfluoroalkyl carboxylic acids in rats: perfluorohexadecanoic acid and perfluorotetradecanoic acid. *Fundam Toxicol Sci*, 2(4) 177-190 (2015)

Igarashi Y, Nakatsu N, Yamashita T, Ono A, Ohno Y, Urushidani T, Yamada H; Open TG-GATES: a large-scale toxicogenomics database. *Nucleic Acids Res*, 43 (Database issue) D921-D927 (2015)

Okamura H, Abe H, Hasegawa-Baba H, Saito K, Sekiya F, Hayashi S, Mirokuji Y, Maruyama S, Ono A, Nakajima M, Degawa M, Ozawa S, Shibutani M, and Maitani T; The Japan

Flavour and Fragrance Materials Association's (JFFMA) safety assessment of acetal food flavouring substances uniquely used in Japan. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 32(9) 1384–1396 (2015)

Ono A, Kobayashi K, Serizawa H, Kawamura T, Kato H, Matsumoto M, Takahashi M, Hirata-Koizumi M, Matsushima Y, Hirose A; A repeated dose 28-day oral toxicity study of β -bromostyrene in rats. *Fundam Toxicol Sci*, 2(4) 191–200 (2015)

松本真理子、清水将史、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6回化学物質共同評価会議概要 化学生物総合管理, 11, 37-45, 2015.

学会発表

Honma M; Trend and Progress of OECD Genotoxicity Testing Guidelines. 39th Annual Meeting of Environmental Mutagen Society of India (2015.5、Impal, India)

Honma M; Ames QSAR Collaborative Study. ICCA LRI workshop (2015.6, New Orleans, USA)

本間正充；OECDテストガイドラインの変更点。JEMS・MMS研究会 第66回定例会 (2015.6、那須)

本間正充；ICH-M7ガイドラインとExpert Review 微生物変異試験研究会第53回定例会 (2015.11、福岡)

Morita T; GHS classification of CMR substances in EU and Japan, AsiaTox 2015、済州島、韓国、2015年6月23-26日。

森田 健；CMR物質のGHS分類比較：EUと日本、第42回日本毒性学会、金沢、2015年6月29日-7月1日。

森田 健；LD50値による毒性評価と行政利用、第37回日本中毒学会合同シンポジウム、和歌山、2015年7月17-18日。

Morita T, Hamada S, Masumura K, Honnma M; Detection of rodent carcinogens and non-carcinogens by in vivo erythrocyte micronucleus and transgenic rodent mutation tests, EEMS 2015, 23-27 August 2015, Prague, Czech Republic.

森田健、濱田修一、増村健一、本間正充；*In vivo* 赤血球小核試験とトランスジェニック齧歯類突然変異試験による齧歯類発がん物質の検出、日本環境変異原学会第44回大会、2015年11月27～28日、九州大学。

森田健、畝山智香子；カラメル色素中の4-メチルイミダゾールのリスク評価、日本環境変異原学会第44回大会、2015年11月27～28日、九州大学。

Hirose A, Hirata-Koizumi M, Kawamura T, Matsumoto M, Takahashi M, Nishimaki-Mogami T, Nishimura T, Ema M, Ono A; Derivation of subacute reference doses for drinking water quality management. The 51st EUROTOX2015 (2015.9, Porto, Portugal)

Nishimura T, Hirata-Koizumi M, Yamada T, Kawamura T, Ono A, Hirose A, Ema M; Derivation of the health advisory guidance values for sub-acute exposure of drinking water. Society of Toxicology 55th Annual meeting (2016.3, New Orleans, USA)

Ono A, Matsumoto M, Takahashi M, Kawamura T, Hirata-Koizumi M, Hirose A; Is a 14-day dose setting study able to predict its 28-day repeated dose toxicity?. The 51st EUROTOX2015 (2015.9, Porto, Portugal)

Hirose A; Japanese Current Chemical Regulation and Contribution to the OECD Cooperative Chemicals Assessment Programme (CoCAP). The 7th International Congress of Asian Society of Toxicology. (2015.7. チェジュ、韓国)

Hirose A; Metal contaminants in drugs: ICH point of view. The 9th Congress of Toxicology in Developing Countries. (2015.10. ナタール, ブラジル)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

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：エームス変異原性の予測精度の向上に関する研究

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
研究協力者	山田 雅巳	国立医薬品食品衛生研究所変異遺伝部	第一室長
研究協力者	北澤 愛莉	国立医薬品食品衛生研究所変異遺伝部	

研究要旨

エームス試験予測QSARモデルの向上を目指した国際共同研究を開始した。日本で実施された安衛法に基づくエームス試験データから、QSARモデルの開発に有用と考えられる12,451化学物質をデータベース化した。平成27年度はこのうち3,950化合物について、エームス試験結果の予測精度を競うPhase I トライアルを行った。世界7カ国から、11のQSARベンダーがこの国際競争に参画し、16のQSARツールについて予測精度の評価を行った。多くのQSARツールの予測精度は比較的高く、実際のエームス試験との一致率は70-80%程度であった。しかしながら、強い陽性化合物を適切に陽性と判定する能力は十分ではなく、偽陰性が多く出ることが懸念され、化審法に基づく化学物質の管理等に実用化するためにはさらなる向上が必要と考えられた。また、ほとんど全てのQSARツールで検出できない強いエームス陽性化合物が多く同定された。これら化合物は新規の変異原性アラートを有することが考えられる。様々な構造を持つ化学物質での試験データを収集し、できるだけケミカルスペースを拡大せることが、QSARの予測精度の向上に繋がるものと考えられる。研究結果は各QSARベンダーで共有し、更に実際のエームス試験結果を開示した。QSARベンダーはこの結果を取り入れ、Phase II トライアルに向けてモデルの改良を行う。このような公正な競争により各QSARツールの予測性が格段に向上することが期待される。

キーワード：エームス試験、安衛法、化審法、QSAR、国際共同研究

A . 研究目的

EU 各国および米国EPA においては、既存化学物質のリスク管理の目的で、安全性評価未実施の物質を対象にカテゴリーアプローチおよび、定量的構造活性相関（QSAR）の利用が検討されている。特に、医薬品における変異原性不純物の評価にQSAR の利用を明文化したICH-M7ガイド

ラインが2015年1月から適用されたことから、一般化学物質のヒト健康リスク評価・管理への適用にも拍車がかかると思われる。

国立医薬品食品衛生研究所・変異遺伝部ではこれまで我が国で行われた エームス試験データを収集し、大規模データベースを再構築してきた。本エームス試験データベースは2万化学物質以上からなり、現在で

は世界最大規模のデータベースである。また、個々の試験はOECDガイドラインに従い、GLP管理下で行われた試験であるため、その信頼性も高い。この最大且つ、信頼性の高いエームス試験データはエームス試験ベンチマークデータセットとして内部利用している。このデータベースの中で、未公開データを、外部評価データとしてQSARベンダーに提供し、世界中で汎用されているQSARツールの予測性の検証と、改良を行うことが本研究の目的である。

未公開のエームス試験データは主に安衛法に従って、化学・製薬メーカーが要求され、自社、もしくは外部の試験受託機関で、GLPで試験されたデータである。安衛法では、労働者が曝露する可能性がある年間100kg以上の中間体を含む化学物質について試験をすることを求めており、その化学物質の種類は多岐にわたるため、極めて有用なデータベースである。安衛法のエームス試験データは2万化合物を超えるが、このうち、高分子ポリマー、混合物、金属化合物を除き、QSARモデルの開発に有用と考えられる12,451の低分子化学物質のデータベースを構築した。

国際共同研究では、これら試験データを3～4回に分けて、エームス試験結果を伏せたままでQSARベンダーに提供する。各QSARベンダーは計算した予測結果を、本研究班に伝え、本研究班でその予測率を評価する。評価後、各QSARベンダーに実際のエームス試験結果を開示する。各QSAR開発者はその結果を基に、QSARモデルや、トレーニングセットを改良し、次のトライアルに参加する。このようなトライアルを繰り返すことにより、全てのQSARツールの

予測性の向上が期待できる。本年度は、この国際共同研究に向けたデータベースの整備と、第1回目(PhaseI)のトライアルを行った。

B. 研究方法

B.1. エームス試験データベースの再構築：

これまで収集したエームス試験データベースの概要を述べる。

最初の903のデータはエーザイ株式会社澤田博士から提供された。このデータベースは、公開されている安衛法試験データ、医薬品、既存化学物質、国立医薬品食品衛生研究所・変異遺伝部で監修した「微生物を用いる変異原性試験データ集」からのデータからなる。データ形式、インデックス形式を決定し、これを「AmesDB903」とした。今後のデータは全て、「AmesDB903」と同じフォーマットとして入力した。

食品安全委員会食品安全総合情報システム検索サイトに掲載されている評価書から「food」データベースを作成した(105化合物)。

公開されている既存化学物質データベースから「kashinhou1」を作成した(221化合物)。

小野らの論文の掲載の香料のデータから「JECFA(FCT6389)」を作成した(367化合物)。

ハンセンらの論文に掲載のデータから「Hansen」を作成した(6,512化合物)。

非公開データである化審法の新規化学物質のエームス試験データから「kashinhou2」を作成した(199化合物)。

最後に、本研究事業で用いる未公開の労働安全衛生法に基づき実施された変異原性

試験データから「labor」を作成した(20,760化合物)。

現在の国立医薬品食品衛生研究所・変異遺伝部で維持、管理しているエームス試験データベースを表1に示す。

B.2. 安衛法データベース

データベースの中の「labor」の試験データは厚生労働省労働基準局安全衛生部化学物質対策課よりデータの提供を受けた。これはデータは、本共同研究でのみ使用することが許され、第3社への提供は行わない。また、共同研究に参加するQSARベンダーとは、公表データ(職場の安全サイト情報)を除き、データの第3社への提供、他の目的への流用は行わない旨の誓約書を取り交わした。入手したファイルはAとBの2種類であり、次のようなエクセルシートで構成されていた。

I: 変異原性評価リスト

変異原性試験結果シートとデータの留意事項シートの二つで構成されていた。

- 変異原性試験結果シートには分類ID(安衛法官報公示整理番号)、Ames試験判定、官報整理番号が記載されていた。
- データの留意事項シートにはAmes試験判定、インデックスの説明が記載されていた。

II: 職場の安全サイト文字情報

Web公開用に作成された物質情報シートと、留意事項シートの二つで構成されていた。

- 物質情報シートには物質名称(和名)、CAS番号、分類ID、官報公示時期などの日付データが記載され

ていた。

- 留意事項シートには情報の公示時期、公開時期についての説明が記載されていた。

これら元データから以下の条件を考慮しデータを精査した。

除外対象物質、混合物、ポリマー、縮合物、有機金属を、物質名称から判断してA、B両ファイルから除外した。

A、B両ファイルを共通の分類IDを用いて結合し、「変異原性評価リスト」(C)とした。

Cの各物質のデータを確認し、物質名称(和名)とCAS番号について、外部の化学物質検索サイト(NTP database、Chem Spider、PubChem、J-Global、日本化学物質辞書web*)と照合し、誤記と判断されたものについて修正した。

データ項目の中では、分類IDが最も信頼できると考え、それに基づき検索が可能な『日本化学物質辞書web』を利用することにした。ただし、当該サイトのデータソースが厚労省のデータであるため、CAS番号の誤記等が共通していた。

データの信頼性確保のため、『PubChem(USA)』を併用することにした。

SMILES形式の構造式情報と物質名称(英名)を、CAS番号をもとに上記5のPubChem(USA)で検索して、物質データのカラムに加えた。

CAS番号がない物質および、PubChem(USA)に掲載がない物質

のSMILES形式と物質名称（英名）については、上記4の日本化学物質辞書webで検索して情報を入手した。

一タのうち、物質名、CAS番号、構造についての情報を得た。

以上の精査により「labor」ユニークな化学物質の種類は12,451化学物質（内エームス陽性1,776化合物）となった。

B.3. 試験データの提供

12,451化合物の内CAS番号がある約8,000物質についてQSARで計算できる形式に変換した。8,000物質のうち、4,018のデータをまとめ、共同研究Phase Iデータとした。これらエームス試験の結果以下の3つに分類される（表2 - 1）。

- A判定:エームス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:エームス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:エームス試験における陰性判定物質

B.4. 共同研究参加機関

2014年7月にイタリアミラノで開催された国際学会「QSAR2014」において、本共同研究を呼びかけたところ、世界7カ国、11のQASRベンダーが共同研究に参画した。合計16のQSARツールが評価に提供され、Phase Iトライアルにチャレンジした（表3）。

C. 結果

2014年12月までに11機関に4,018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。エームス試験結果については開示していない。2015年12月末までに参加機関のQSARツールによるエームス試験判定予測結果を回収し、予測精度を評価した。

C.1. 非評価対象とする化合物

Phase Iで提供した4,018物質の中には混合物であるためQSARによる計算が困難である化合物、もしくはイオン化合物であり、中性化によって既存の化合物と同一の化合物となるものが複数存在することが明らかとなった。これらは68化合物であった。これら物質を評価対象とすると、ドメイン適用率や、予測率が低下することが予想されたため、共同研究参加者の同意の下、これら68化合物を評価対象から外した。新たに評価対象とする3,950物質の内訳を表2 - 2に記載した。

C.2. 3,950化合物のQSARによるエームス試験結果の予測

表4に11のQSARベンダーが提供する16のQSARツールによるエームス試験予測結果を示す。ブルガス大学提供する”OASIS TIMES”は代謝物をメカニズムベースで予測するツールを含んでおり、情報となるドメイン構造が少ないため、ドメイン内とドメイン外で別々に計算した。ラーサ社、マルチケース社、リードスコープ社は知識ベース、統計ベースの2つのQSARツールを提供した。イタリアのマリオネグリ研究所は、3つの統計ベースのQSARツールを提供した。

基本的な能力評価はA-Sensitivity、

AB-Sensitivity、Specificityを用いた。A-Sensitivityは強いエームス陽性化合物を陽性判定する率で有り、規制側はこの値を最も重要視する。Specificityはエームス陰性化合物を陰性と判定する率で、化学物質や、医薬品の開発にはこの数値が高いことが望まれる。最も高いA-Sensitivityを示したものはイタリアのマリオネグリ研究所のVEGA+MNとマルチケース社のCase-ULTRA(rule based)であった(ともに81.3%)。

C.3. QSARで検出できない強いエームス陽性化合物(偽陰性)

今回の3,950化学物質には183の強いエームス陽性化合物が含まれる(A判定)。しかしながら、このうち8化合物については(図1)16のQSARツールの全てが陰性、もしくは評価不能と判定をした。また、11の化合物については1つのQSARツールを覗き全て陰性の判定であった。これら化合物は”False Negative(偽陰性)”と判定されたと考えられる。

C.4. QSARで検出できないエームス陰性化合物

今回の3,950化学物質のうち3,380化合物はエームス陰性である(C判定)。しかしながら、このうち10化合物については(図2)16のQSARツールの全てが陽性の判定をした。また、23の化合物については1つのQSARツールを覗き全て陽性の判定であった。これら化合物は”False Positive(偽陽性)”と判定されたと考えられる。

D. 考 察

これまで開発されたQSARツールの予測性の検証には、多くの場合、開発者が有する内部データによって検証されてきた。内部データはQSAR開発のためのトレーニングデータセットを含むため、その予測率が高いのは同然で有り、客観的評価となっていない。特に、化学メーカーや製薬企業が公開するデータの多くは、エームス陰性化合物で有り、それを基に開発されるQSARツールは、Specificityは高いものの、Sensitivityは低いか、もしくはその値は信頼性に乏しい。規制当局に取っては、スクリーニング試験であるQSARはSensitivityが十分に高いことが必須である。これにより、変異原性にハザードの高い化学物質が、安易に環境中に放出されることなく、適切に管理されることが可能となる。従って、外部データを用い、QSARモデル、QSARツールの精度を評価することは、QSAR開発ベンダーにとっても、QSAR利用者にとっても、そして規制側にとっても有益な情報を与えてくれる。また、これら結果を各QSARベンダーで共有し、更に実際に試験データを開示することは、QSARベンダーの公正な競争により各QSARツールの予測性の向上に繋がる。本研究班では、このような研究を通じ、QSARベンダー、QSARユーザー、規制当局が”ウィン、ウィン、ウィン”の関係となることを目指す。

今回の3,950化合物の予測精度に関しては、ICH-M7を契機にエームス試験の予測性の向上に積極的に取り組んでいるラーサ社、マルチケース社、リードスコープ社のQSARツールの予測性に期待が持たれた。3社は、知識ベース、統計ベースの両者のモデルを有する。概して、3社のツールは

Sensitivity、Specificityともバランスがよく、75～82%の一致率(Correspondence)を示した。一方、規制当局が懸念するA-Sensitivityに関しては、マリオネグリ研究所のVEGA、およびVEGA+MNモデルが80%以上の検出率を示したが、一方Specificityは70%以下で有り、偽陽性が多くなることが懸念された。REACH(EU)、TSCA(米国)、化審法(日本)のような化学物質の管理のシーンでは、このような高いSensitivityを有するQSARツールは、化学物質の初期スクリーニングや実際に試験をするために優先順位付けに有効かもしれない。

ブルガス大学のTIMESモデルも高いSensitivityを示したが、適用ドメインが14.5%と極めて低かった。TIMESには薬物代謝モデルが組み込まれているが、本プロジェクトでは化学物質の代謝情報に関しては開示していない。今後、TIMESのようなモデルの向上には、エーム試験のS9の条件の有無、仕様菌株の情報などが必要と考えられる。

A-Sensitivityが低いツールとして、スイスのAZMES、スペインのSymmetry、ブルガリアのAMBIT、日本のADMEWORKSが挙げられる。これらのA-Sensitivityは60%以下で有り、多くの強い変異原物質を偽陰性と判断する可能性がある。今後の、改良が望まれる。

ほとんど全てのQSARツールの全てが陰性と間違っ判定した化学物質が全体の強いエームス陽性化学物質の10%も存在したことは、これらのQSARツールがいまだ未熟であることを示すと同時に、本プロジェクトの意義が明確になった。すなわち、様々

な化学構造を有する化学物質の試験結果をデータベース化し、エームス陽性のケミカルスペースを拡大することが、偽陰性を減らすことに繋がるものと確信する。また、偽陽性も多く見つかった。警告アラートとは別に、それらアラートを修飾する部分構造や、トキシコフォープを同定することが偽陽性の削減に役立つ。さらに多くの化学物質の情報と、予測のためのパラメータの組み合わせやアルゴリズムの変更が必要である。

平成28年度からは約3,800の化合物を提供したPhase IIチャレンジを行う予定である。現在のPhase Iの情報を基に、各QSARツールはバージョンアップし、予測精度が向上することを期待する。

E. 結 論

エームス試験予測QSARモデルの向上を目指した国際共同研究を開始した。日本で実施された安衛法に基づくエームス試験データから、QSARモデルの開発に有用と考えられる12,000化学物質のをデータベース化した。H27年度はこのうち3,950化合物について、エームス試験結果の予測精度を競うPhase Iトライアルを行った。世界7カ国から、11のQSARベンダーがこの国際競争に参画し、16のQSARツールについて予測精度の評価を行った。多くのQSARツールの精度は高いものであったが、強い陽性化合物を適切に陽性と判定する能力のさらなる向上が望まれた。また、ほとんど全てのQSARツールで検出できない強いエームス陽性化合物が多く同定された。これら化合物は新規の変異原性アラートを有することが考えられる。多くの外部データで試験を

行い、できるだけケミカルスペースを拡大させることが、QSARの予測精度の向上に繋がるものと考えられる。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

誌上発表

Barber C, Amberg A, Custer L, Dobo KL, Glowienke S, Van Gompel J, Gutsell S, Harvey J, Honma M, Kenyon MO, Kruhlik N, Muster W, Stavitskaya L, Teasdale A, Vessey J, Wichard J; Establishing best practise in the application of expert review of mutagenicity under ICH M7. *Regul Toxicol Pharmacol.*, 73, 367-377 (2015)

Canipa S, Cayley A, Drewe WC, Williams RV, Hamada S, Hirose A, Honma M, Morita T; Using in vitro structural alerts for chromosome damage to predict in vivo activity and direct future testing. *Mutagenesis.* 31, 17-25 (2015)

Petko IP, Patlewicz G, Terry, Schultz W, Honma M, Todorov M, Kotov S, Dimitrov SD, Donner M, Mekenyan OG; A feasibility study: Can information collected to classify for mutagenicity be informative in predicting carcinogenicity?

Regul. Tox. Pharm., 72, 17-25 (2015)

学会発表

Honma M; Trend and Progress of OECD Genotoxicity Testing Guidelines. 39th Annual Meeting of Environmental Mutagen Society of India (2015.5、インパール、インド)

Honma M; Ames QSAR Collaborative Study. ICCA LRI workshop (2015.6、ニューオリンズ、米国)

本間正充; OECDテストガイドラインの変更点 . JEMS・MMS研究会 第66回定例会 (2015.6、那須)

本間正充; ICH-M7ガイドラインとExpert Review 微生物変異試験研究会第53回定例会 (2015.11、福岡)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表1. 入力済みデータベース一覧

データベース名	データ出典 ¹⁾	全データのAmes試験結果 ²⁾					除外物質を除いたAmes試験結果 ³⁾				
		陽性 ⁴⁾	疑陽性 ⁵⁾	陰性 ⁶⁾	その他 ⁷⁾	合計 ⁸⁾	陽性 ⁴⁾	疑陽性 ⁵⁾	陰性 ⁶⁾	合計 ⁸⁾	
AmesDB903	岩瀬安全衛生法に基づき実施された変異原性試験結果(公開)	114	3	200	0		102	3	173		
		10	0	161	0		6	0	100		
	医薬品関連情報	25	2	161	0	903	22	2	149	736	
		40	0	187	0		37	0	142		
food	食品安全委員会 評面書	12	3	90	0	105	12	3	83	98	
labor	岩瀬安全衛生法に基づき実施された変異原性試験結果(昭和64年~平成24年(非公報))	2375	0	18054	331	20760	1776	0	10675	12451	
kasinhon1	化審法審査シートデータ(既存)	13	0	189	19	221	9	0	152	161	
kasinhon2	化審法審査シートデータ(新規)	9	0	168	22	199	3	0	106	109	
JECFA(FCT6389)	Food and Chemical Toxicology: FCT6389 掲載の香料	24	14	329	0	367	23	14	310	347	
Hansen	J. Gram. Inf. Model. 掲載のQSARベンチマークデータ	3503	0	3009	0	6512	3299	0	2462	5761	
合計		6125	22	22548	372	29067	5289	22	14352	19663	

表1 注釈

- 1) 各出典のデータソース。
- 2) データ入手時のAmes試験判定結果を示す。陽性、陰性、疑陽性、その他、合計の別で示した。
- 3) 重複、除外データを除いたAmes試験判定結果を示す。陽性、陰性、疑陽性、その他、合計の別で示した。
- 4) Ames試験において陽性と判定された物質。laborのみA判定とB判定に分かれる。
A判定: Ames試験における比活性値が1,000 rev/mg以上で、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。
- 5) Ames試験において復帰変異株数が陰性対照の2倍に達しないものの、用量依存性があると確認された物質。
- 6) Ames試験において陰性と判定された物質。
- 7) Ames試験データが無い物質。除外扱い。
- 8) 各DBのデータ合計数。

表2 共同研究 Phase I 試験化学物質

(1) 4,018 Chemicals

Class	Mutagenicity	No. of chemicals
A	Strongly Positive (>1,000 rev/mg)	186
B	Positive (< 1,000 rev/mg)	389
C	Negative	3,442
total		4,018

(2) 3,950 Chemicals

Class	Mutagenicity	No. of chemicals
A	Strongly Positive (>1,000 rev/mg)	183
B	Positive (< 1,000 rev/mg)	387
C	Negative	3380
total		3,950

表 3 共同研究参加機関

Builders	QSAR models
1. Lhasa Limited (UK)	DEREK Nexus ver. 4.0.5, SARAH ver. 1.1.2
2. MultiCASE Inc (USA)	CASE Ultra ver.1.5.2.0 rule-based, statistical-based
3. Leadscope Inc (USA)	Leadscope rule-based, statistical-based
4. Prous Institute (Spain)	Symmetry ver.19
5. Bourgas University (Bulgaria)	OASIS TIMES
6. Istituto Superiore di Sanita (Italy)	Toxtree 2.6.6
7. Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri (Italy)	SARpy, VEGA, CAESER
8. Swedish Toxicology Science Research Center (Sweden)	SwetoxAZAMES
9. FUJITSU KYUSHU SYSTEMS (Japan)	ADMEWORKS
10. IdeaConsult Ltd. (Bulgaria)	AMBIT
11. Molecular Networks GmbH and Altamira LLC (USA)	ChemTunes Studio

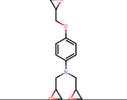
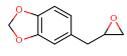
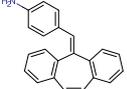
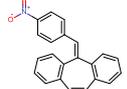
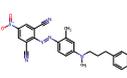
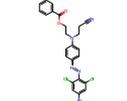
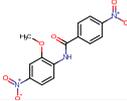
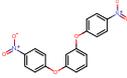
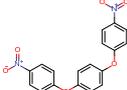
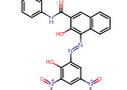
表 4 Phase I 評価結果

Builders	Contact Person	QSAR Models	Sensitivity [A] (%)	Sensitivity [A+B] (%)	Specificity (%)	Concordance (%)	Applicability (%)
Istituto di Ricerche Farmacologiche Mario Negri (Italy)	Emilio Benfenati	VEGA; Consensus (CASAR, Toxtree, SARpy)	78.0	66.0	70.3	69.7	99.6
		VEGA +MN in ToxRead	81.3	67.3	64.6	65.0	99.6
		CRS4 in ToxRead	68.5	57.1	77.8	74.8	96.8
Swedish Toxicology Science Research Center (Sweden)	Ulf Norinder	Swetox AZAMES	56.2	38.7	91.6	84.1	97.1
Lhasa Limited (UK)	Alex Cayley	Derek_NX ver.4.0.5	72.1	58.6	86.3	82.3	100.0
		Sarah ver.1.1.2	64.7	51.3	82.1	77.7	80.0
Istituto Superiore di Sanita (Italy)	Bossa Cecilia	ToxTree 2.6.6	74.9	65.2	68.2	67.8	99.9
Prous Institute (Spain)	Christine DeMeo	Symmetry S. typhimurium (Ames)-gene mutation in vitro microbial	51.4	43.9	80.4	75.1	99.9
Bourgas University (Bulgaria)	Ovanes Mekenyan	OASIS TIMES (In domain)	79.4	49.5	88.5	82.0	99.9 (domain applicability: 14.5)
		OASIS TIMES (All)	59.3	50.4	77.1	73.3	
Leadscope Inc (USA)	Glenn Myatt	Rule-based (Alerts)	74.1	60.1	79.1	76.4	94.3
		Statistical-based (QSAR)	76.2	58.6	83.3	79.9	86.0
MultiCASE Inc (USA)	Roustem Saiakhov	BM_PHARMA v1.5.2.0 (Statistical approach; SALMECOLI consensus)	65.5	53.0	84.7	80.1	90.3
		GT_EXPERT v1.5.2.0 (Rule based)	81.3	69.8	75.0	74.2	90.7
IdeaConsult Ltd. (Bulgaria)	Nina Jeliakova	Ambit consensus model	59.1	43.5	86.3	80.2	93.6
FUJITSU KYUSHU SYSTEMS (Japan)	Hitomi Koga	ADMEWORKS/Predictor Ames-V71	58.5	46.5	80.1	76.0	57.1
Molecular Networks GmbH and Altamira LLC	Chihae Yang	ChemTunes v1.0AMES2015-02	77.7	65.7	76.1	74.6	90.3

図1 全てのQSARツールで陰性と判定されたエームス強陽性化合物（偽陰性）

Serial_Id	result	Structure	ANEI_No.	CAS#	Chemical_Name	overlap	Ames	Comment	構造式に変更があった物質	CAS# ANEI_No. Serial_Id に変更があった物質
777	A		2-(10)-175	95465-58-0	N-Ethylideneethylenediamine					
1213	A		7-(4)-724	25187-08-0	2,2',4,4'-Tetrachlorobenzophenone					
2082	A		1-(3)-288	7783-54-2	nitrogen trifluoride					
2159	A		4-(4)-988	87269-99-6	N-(2-Benzoyl-1-ethoxycarbonyl)ethylaniline					CAS#が検索出来ない
4670	A		8-(4)-1120	3947-65-7	Neamine					
5152	A		2-(4)-919	132929-84-1	Peroxycarbonic acid OO-(1,1-dimethylbutyl)O-isopropyl ester					CAS#が検索出来ない
10373	A		2-(1)-31	917-92-0	3,3-Dimethyl-1-Butyne					
10612	A		2-(2)-223	16490-49-6	Chlorotris(dimethylamino)phosphonium chloride					

図2 全てのQSARツールで陽性と判定されたエームス陰性化合物（偽陽性）

Serial_Id	result	Structure	ANEL_No.	CAS#	Chemical_Name	overlap	Ames	Comment	構造式に変更があった物質	CAS# ANEL_No. Serial_Idに変更があった物質
420	C		8-(4)-931	5026-74-4	p-(2,3-Epoxypropyl-1-yloxy)-N,N-bis(2,3-epoxypropyl-1-yl)amine					
2643	C		8-(5)-195	7470-44-2	Safrole epoxide	Hansen	1			CAS#変更
2914	C		7-(1)-539	119344-09-1	5-(4-Aminobenzylidene)-5H-dibenzo[a,d]cycloheptene					CAS#が検索出来ない
3003	C		7-(1)-544	27980-45-6	5-(4-Nitrobenzylidene)-5H-dibenzo[a,d]cycloheptene					
3202	C		4-(7)-1513	96293-52-6	2-[2-Methyl-4-[N-methyl-N-(3-phenylpropyl)amino]phenylazo]-5-nitrosophthalonitrile					
3466	C		4-(7)-1532	37672-70-1	2-[N-(2-Cyanoethyl)-4-(2,6-dichloro-4-nitrophenylazo)amino]ethyl-benzoate					
3946	C		4-(7)-1572	5428-51-3	N-(2-methoxy-4-nitrophenyl)-4-nitrobenzamide					
4381	C		4-(14)-191	13118-94-0	1,3-bis(4-nitrophenoxy)benzene					
5012	C		4-(14)-209	20638-32-8	4,4'-(1,4-Phenylenedioxy)bis(1-nitrobenzene)					CAS#が検索出来ない
5275	C		5-1162	84285-00-7	3-Hydroxy-4-(2-hydroxy-3,5-dinitrophenylazo)-N-phenyl-2-naphthalenecarboxamide					CAS#が検索出来ない

平成 27 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

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：構造活性相関モデル構築手法の比較と利用に関する研究

研究分担者 小野 敦 国立医薬品食品衛生研究所 安全性予測評価部 第1室長

要旨

本研究では、既知情報からの評価の可能性を判定するスキームを構築し、判定結果に応じて、化学構造を指標として可能な限り効率的なリスク評価スキームを構築することを目的とした研究を進めている。本年度は、類似物質について毒性情報が得られておらず化学構造のみからの評価が困難と判断された化学物質について、基本的な化学構造的特徴と短期毒性試験結果をもとにした毒性クラス判定の可能性について検討を行った。既存化学物質安全性点検事業により、反復投与毒性試験（28日間試験もしくは反復投与生殖発生併合試験）が実施された化学物質について、本試験に先立って実施された予備試験の概要と本試験・予備試験それぞれにおける NOAEL、LOAEL 及び主な毒性所見を整理して、予備試験結果と本試験結果との比較解析及び基本的な物性や毒性クラス分類との相関について解析を行った結果、特定の化学構造的特徴を有しており 14 日間予備試験で NOAEL が求められている物質については、14 日間 NOAEL の組み合わせで、スクリーニングレベルの評価が可能であることが示された。また、（14 日間）予備試験では、病理組織学的検査や血液生化学検査が実施されない場合も多いが、短期試験においても、それらの検査を実施することでより正確な評価（予測）が可能であり、類似物質についての毒性情報が得られておらず化学構造のみからの評価が困難と判断された化学物質について、基本的な化学構造的特徴と短期毒性試験結果をもとに毒性クラスの効率的な判定が可能であることが示唆された。

A. 研究目的

現在、世の中には数万種に及ぶ既存化学物質が安全性評価未実施のまま流通しており、それらの化学物質のリスク管理は、世界的な課題となっている。さらに、我が国の化学物質規制法である化審法（「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律」）では、良分解性物質や 10t 未満の物質（少量新規及び低生産量物質）については、ヒト健康影響に関するスクリーニング毒性試験の実施無しに申請可能であるが、そうした物質であっても可能な限りヒト健康リスクを把握し適切な

管理を行うことが望まれる。

化学物質のヒト健康影響評価は、動物を用いた安全性試験により評価されているが、評価の効率化や動物愛護の観点から、動物試験の削減が求められている。そうした背景から、既に安全性評価が実施済みの化学物質に構造が類似する化学物質群については、構造類似物質の評価結果をもとに類推評価するカテゴリーアプローチによる評価が検討されており、既に一部、実用化されている。しかし、カテゴリーアプローチによる化学物質の類似性評価には、合意された客観的な手法が

存在するわけではなく、評価を行うエキスパートによりケースバイケースで妥当性が判断されるのが実情である。また、これまでに評価済みの化学構造データをもとに様々な構造活性相関モデル構築の検討も進められているが、これまでのところ国際的にリスク評価に受け入れ可能とされたモデルはない。さらに、カテゴリーアプローチを始めとした構造類似物質の情報をもとにした評価手法は、既知情報から評価対象物質の評価を行う経験則に基づいており、用いたデータベースに毒性既知の類似物質の情報が得られていない、新規構造物質については予測不可能である。

そこで本研究では、既知情報からの評価の可能性を判定するスキームを構築し、判定結果に応じて、化学構造を指標として可能な限り効率的なリスク評価スキームを構築することを目的とした研究を進めている。本年度は、類似物質について毒性情報が得られておらず化学構造のみからの評価が困難と判断された化学物質について、基本的な化学構造的特徴と短期毒性試験結果をもとにした毒性クラス判定の可能性について検討を行った。

B. 研究方法

1. In vivo 反復毒性試験における予備試験結果と本試験結果の比較

既存化学物質安全性点検事業により、反復投与毒性試験(28日間試験もしくは反復投与生殖発生併合試験)が実施された化学物質について、本試験に先立って実施された予備試験の概要と本試験・予備試験それぞれにおけるNOAEL、LOAEL及び主な毒性所見を整理して、予備試験結果と本試験結果との比較解析を行った。なお、最も多くの物質で実施されていた予備試験期間は、14日間であったことから、14日間反復投与試験を予備試験として実施された物質のみを本研究の解析対象とした。また、28日間試験と反復投与生殖発生併合試験では、本試験における投与期間が異なるため、分けて解析を行った。

2. 化学構造を指標とした in vivo 短期試験結果からの毒性クラス判定の検討

1で得られた解析結果について、さらに化学構造から評価可能な指標を用いて、化学物質の分類を行い、短期試験から信頼性の高い評価が可能な化学構造的特徴について検討を行った。本研究では、化学構造的特徴として、Cremerの毒性分類、分子量、水素結合ドナー、アクセプターの数について検討を行った。

3. 予備試験と本試験における無毒性量判定根拠の比較

2の解析結果において、Cremer毒性クラス1,2に分類された物質のうち、予備試験と本試験における無毒性量の比が大きい(5倍以上)物質について、予備試験と本試験における無毒性量判定根拠の比較を行い、無毒性量の比が大きくなる原因について考察した。

C. 研究結果

1. In vivo 反復毒性試験における予備試験結果と本試験結果の比較

解析を行った化学物質のうち、予備試験として14日間試験が実施された物質は、28日間試験(TG407)174物質、反復投与生殖発生併合試験(TG422)155物質であった。そのうち、14日間試験においてNOAELが求められた物質(TG407:96/174, TG422:97/155)について、14日間試験におけるNOAEL(NOAEL_14d)と本試験におけるNOAEL(NOAEL_28d)の相関比較を行った結果を図1に示した。TG407、TG422いずれの試験結果においても、NOAEL_14dとNOAEL_28dは良く相関し、幾つかの物質では、NOAEL_28dのほうがNOAEL_14dより高い結果であった。NOAEL_14dとNOAEL_28dの比の分布(図2)から、TG407、TG422いずれにおいても80%以上の物質で比が5倍以内であった。一方、14日間予備試験でNOAELが求めら

れなった物質(TG407: 35, TG422: 41)についての14日間試験におけるLOAEL_{14d}とNOAEL_{28d}の比は多くの場合で5倍以上であり、30%以上の物質では、比が10倍以上であった(図3)。

2. 化学構造を指標とした in vivo 短期試験結果からの毒性クラス判定の検討

1の解析結果からNOAEL_{14d}とNOAEL_{28d}は良く相関し、80%以上の物質ではNOAEL比(NOAEL_{14d}/NOAEL_{28d})が5倍以内であることが明らかとなった。一方で、約20%の物質では、NOAEL比が5倍以上で且つ、数は少ないものの10倍を超える物質もあることが明らかとなった。そこで、化学構造から評価可能なエンドポイントとしてCremer毒性クラス分類を行い、毒性クラスごとのNOAEL比の分布について検討を行った。Cremer分類の結果、毒性クラス2に分類された物質は数物質であったため、毒性クラス1,2と毒性クラス3の2グループに分けて、NOAEL比をNOAEL_{14d}に対してプロットした結果を図4に示した。TG407、TG422いずれにおいてもNOAEL比が大きな物質のほとんどは毒性クラス3に分類され、毒性クラス1,2のグループでNOAEL比が5倍を超える物質は、TG407実施2物質、TG422実施4物質であった。さらに、化学構造から計算可能な、基本的なとしてMolar Mass及び水素結合ドナー、アクセプターの数を計算してNOAEL比との関係について解析を行った結果を図5に示した。その結果、Cremerの毒性クラス分類によらず、NOAEL比が大きい物質では、Molar Massが小さく、及び水素結合ドナー、アクセプターの積数が少ない傾向が認められた。

3. 予備試験と本試験における無毒性量判定根拠の比較

2の解析結果において、毒性クラス1,2のグループでNOAEL比が5倍を超える、TG407実施2

物質、TG422実施4物質について、NOAEL比が大きくなった原因について検討を行う目的で、予備試験と本試験それぞれにおける無毒性量判定根拠について比較を行った結果を表1, 2に示した。これらの物質のNOAEL比は8から16倍であった。TG407実施2物質の本試験判定根拠は、いずれも病理組織学的変化であったが、予備試験において病理組織学的検査は実施されておらず、NOAEL比が大きくなった原因の一つとして考えられた。一方、TG422実施4物質のうち3物質の本試験判定根拠は、体重や臓器重量、もしくは血液生化学的検査結果であった。1物質(CAS No.1459-93-4)では、妊娠雌動物でのみ体重増加抑制が認められており、併合試験では妊娠による影響もNOAEL比の原因となる可能性が示唆された。一方、メチルシクロヘキサン(CAS No.108-87-2)では、予備試験、本試験で共通する所見としてコレステロール上昇が認められ、本試験では雄のみ最低用量から認められたと報告されているが、結果を確認したところ、本試験の雄、最低用量と中間用量におけるコレステロール値は同程度で用量相関性が無い、本試験では雌では認められていないことから、本試験における雄コントロール値が低かったため差が有意となった可能性も考えられた。

D. 考察

本研究では、化審法におけるヒト健康影響評価で要求されるスクリーニング毒性試験のうち、特に反復投与毒性試験により評価されるin vivo毒性について化学構造を指標とした推定評価手法の実用化を目的とする。

これまでに反復投与毒性の構造活性相関手法については、肝毒性や腎毒性など毒性標的臓器ごとの毒性発現の評価モデルの構築などの検討が行われてきているが、リスク評価におけるin vivo反復毒性試験の目的はむしろ毒性の起きない用量である無毒性量を明らかにし、毒性の強さに応じた化学物質の管理を行うことによりヒト健康

被害を防止することにある。様々な毒性メカニズムによる無毒性量を化学構造的特徴から予測するのは困難であるものの、非常に構造が類似した化学物質についての毒性情報が得られている場合には、カテゴリーアプローチを代表例とする毒性類推の手法が適用可能であることが示されており、一部では利用され始めている。しかし、カテゴリーアプローチを始めとした構造類似物質の情報をもとにした評価手法は、既知情報から評価対象物質の評価を行う経験則に基いており、用いたデータベースに毒性既知の類似物質の情報が得られていない、新規構造物質については予測不可能であるかもしくは予測結果が得られたとしてもその信頼性は低い。

そこで本研究では、評価対象とする化学物質について既知情報からの評価の可能性を判定するスキームを構築し、判定結果に応じて、化学構造を指標として可能な限り効率的なリスク評価スキームを構築することを目的とした研究を進めている。本年度は、類似物質について毒性情報が得られておらず化学構造のみからの評価が困難と判断された化学物質について、基本的な化学構造的特徴と短期毒性試験結果をもとにした毒性クラス判定の可能性について検討を行った。

すなわち、反復投与毒性試験の実施にあたっては、ほとんどの場合、用量設定のための短期の予備試験が実施される。毒性の非常に強い一部の化学物質を除いて用量設定試験において無毒性量が得られることから、化学構造から評価可能な基本的な物性等の情報と組み合わせで予備試験レベルの短期試験で得られる無毒性量から、28日間試験相当の無毒性量を評価可能であれば、短期試験において無毒性量が得られた化学物質については、試験実施に必要な期間や動物数を半減することが可能である。

そこで本研究では、まず既存化学物質安全性点検事業により、反復投与毒性試験(28日間試験もしくは反復投与生殖発生併合試験)が実施された化学物質について、本試験に先立って実施された

予備試験の概要と本試験・予備試験それぞれにおける NOAEL、LOAEL 及び主な毒性所見を整理して、予備試験結果と本試験結果との比較解析を行った。その結果、予備試験としては 14 日間試験が最も多く実施されており、14 日間試験において NOAEL が求められた物質では、NOAEL 比 (NOAEL_{14d}/NOAEL_{28d}) は、80%以上の物質で 5 倍以内であった。その一方で、約 20%の物質では、NOAEL 比が 5 倍以上で且つ、数は少ないものの 10 倍を超える物質もあることが示された。そこで、Cremer 毒性クラス分類を実施して、毒性クラスごとの NOAEL 比の分布をみたところ、毒性クラス 1,2 のグループでは NOAEL 比が 5 倍を超える物質は数個であったのに対して、毒性クラス 3 には NOAEL 比が 5 倍を超える物質が多数分類された。Cremer 毒性分類は、毒性の強さを簡易分類するルールであるが、本研究結果は、投与の延長により毒性が強くなる物質が毒性クラス 3 に分類されることを示唆していると考えられた。一方、化学構造から計算可能な基本的な物性と NOAEL 比との関係について解析した結果、NOAEL 比が大きい物質では、Molar Mass が小さく、及び水素結合ドナー、アクセプターの積数が少ない傾向が認められた。ただし、Molar Mass が小さい物質や水素結合ドナー、アクセプターの積数が少ない物質であっても、NOAEL 比が小さい物質は多く、これらの指標から直接判断をすることは難しく、Cremer 毒性分類との組み合わせ等、複数の指標の組み合わせによる評価を行うことでより信頼性の高い評価が可能であることが示された。

一方、NOAEL 比の大きい物質について予備試験と本試験における無毒性量判定根拠の比較を行った結果、NOAEL 比が大きくなった原因として、本試験では病理組織学的変化が判定根拠であったが、予備試験において病理組織学的検査は実施されていないケース、併合試験で妊娠動物のみに影響が認められたケースなどが認められた。さらに、本試験で用量相関性が無い血液生化学的変

化を判定根拠している試験結果もあり、このようなケースでは、NOAEL 比は大きかったものの本試験における所見は毒性学的に重大なものではなく、予備試験における NOAEL の 5 倍以内と評価されたとしてもスクリーニングレベルの評価においては問題無いと考察された。

すなわち、本年度の研究結果から、特定の化学構造的特徴を有しており 14 日間予備試験で NOAEL が求められている物質については、14 日間 NOAEL の組み合わせで、スクリーニングレベルの評価が可能であることが示された。また、(14 日間) 予備試験では、病理組織学的検査や血液生化学検査が実施されない場合も多いが、予備試験においても、それらの検査を実施することでより正確な評価(予測)が可能であり、類似物質についての毒性情報が得られておらず化学構造のみからの評価が困難と判断された化学物質について、基本的な化学構造的特徴と短期毒性試験結果をもとに毒性クラスの効率的な判定が可能であることが示唆された。

E. 結論

本研究は、化学物質のヒト健康リスク評価の効率化や動物愛護の観点から、化審法におけるヒト健康影響評価で要求されるスクリーニング毒性試験のうち、特に反復投与毒性試験により評価される *in vivo* 毒性について化学構造を指標とした推定評価手法の実用化を目的としている。これまでの研究から反復毒性については、予測対象の化学物質に類似した化学物質について情報が得られていれば、ある程度、予測評価が可能であることが示された一方、多様な化学構造の化学物質を一括して評価する予測モデルの構築は難しいことも示されている。多くの化学物質に対して予測を行うためには、データベースに構造類似の化学物質が含まれていることの重要性を示しており、幅広い化学構造に対応したデータベースの拡充が課題であるとともに、単一のモデルやルールで全ての化学物質について評価を行うアプローチよ

りも、化学物質ごとに入手可能な類似物質の情報をもとに適用可能な評価手法を選択して評価を行う評価スキームのほうが化学物質規制における実用性は高いと考えられる。そのため本研究では、既知情報からの評価の可能性を判定するスキームを構築し、判定結果に応じて、化学構造を指標として可能な限り効率的なリスク評価スキームの構築を目的としている。本年度の研究により、特定の化学構造的特徴を有する化学物質については、短期の動物試験結果からのスクリーニング評価が可能であることが示された。このアプローチは、類似構造や共通部分構造の化学物質について予測に十分な知見の得られていない化学物質の評価に有用であるだけでなく、全ての化学物質の評価にも適用可能であると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- M. Hirata-Koizumi, S. Fujii, K. Hina, M. Matsumoto, M. Takahashi, A. Ono and A. Hirose ; Repeated dose and reproductive/developmental toxicity of long-chain perfluoroalkyl carboxylic acids in rats: perfluorohexadecanoic acid and perfluorotetradecanoic acid; *Fundam Toxicol Sci*, 2(4) 177–190 (2015)
- Y. Igarashi, N. Nakatsu, T. Yamashita, A. Ono, Y. Ohno, T. Urushidani and H. Yamada ; Open TG-GATEs: a large-scale toxicogenomics database.; *Nucleic Acids Res*, 43(Database issue) D921–D927 (2015)
- H. Okamura, H. Abe, Y. Hasegawa-Baba, K. Saito, F. Sekiya, S. Hayashi, Y. Mirokuji, S. Maruyama, A. Ono, M. Nakajima, M. Degawa, S. Ozawa, M. Shibutani and T. Maitani ; The Japan Flavour and Fragrance Materials Association's (JFFMA) safety assessment of acetal food flavouring substances uniquely used in Japan.; *Food*

Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess, 32(9) 1384–1396 (2015)

- A. Ono, K. Kobayashi, H. Serizawa, T. Kawamura, H. Kato, M. Matsumoto, M. Takahashi, M. Hirata-Koizumi, Y. Matsushima and A. Hirose ; A repeated dose 28-day oral toxicity study of β -bromostyrene in rats; *Fundam Toxicol Sci*, 2(4) 191–200 (2015)

2 . 学会発表

- A. Hirose, M. Hirata-Koizumi, T. Kawamura, M. Matsumoto, M. Takahashi, T. Nishimaki-Mogami, T. Nishimura, M. Ema and A. Ono :Derivation of subacute reference doses for drinking water quality management. *The 51st EUROTOX2015* (2015.9, Porto, Portugal)
- T. Nishimura, M. Hirata-Koizumi, T. Yamada, T. Kawamura, A. Ono, A. Hirose and M. Ema :Derivation of the health advisory guidance values for sub-acute exposure of drinking water. *Society of Toxicology 55th Annual meeting* (2016.3, New Orleans, USA)
- A. Ono, M. Matsumoto, M. Takahashi, T. Kawamura, M. Hirata-Koizumi and A. Hirose :Is a 14-day dose setting study able to predict its 28-day repeated dose toxicity?. *The 51st EUROTOX2015* (2015.9, Porto, Portugal)

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

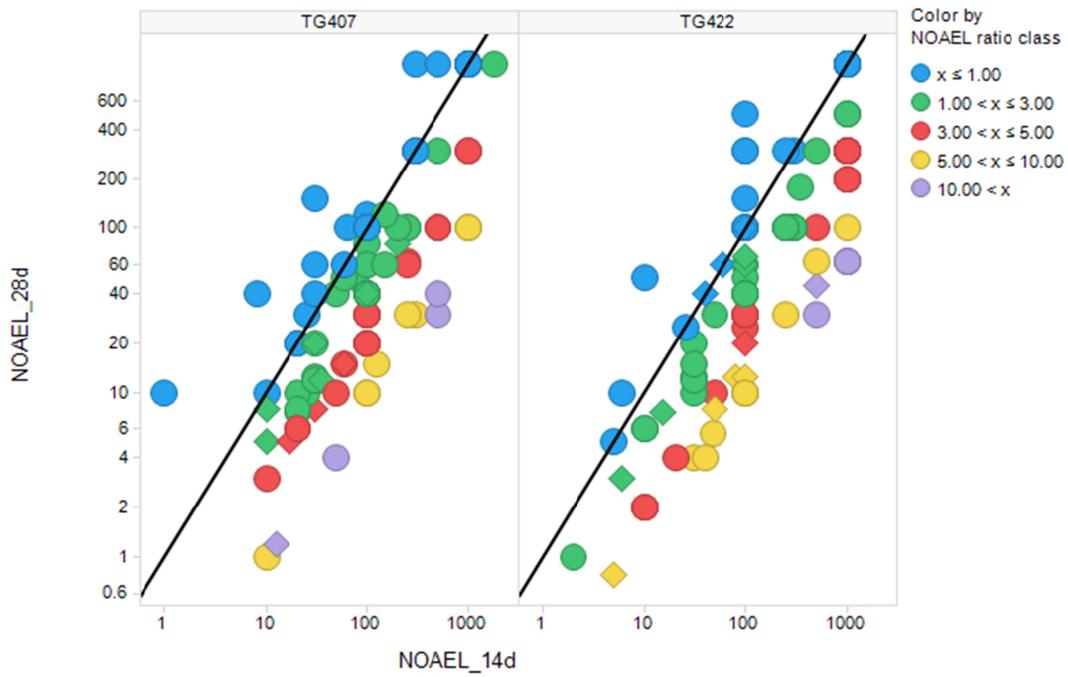


図1 14日間予備試験においてNOAELが求められた物質(TG407: 96/174, TG422: 97/155)の14日間NOAELと28日間NOAELの比較

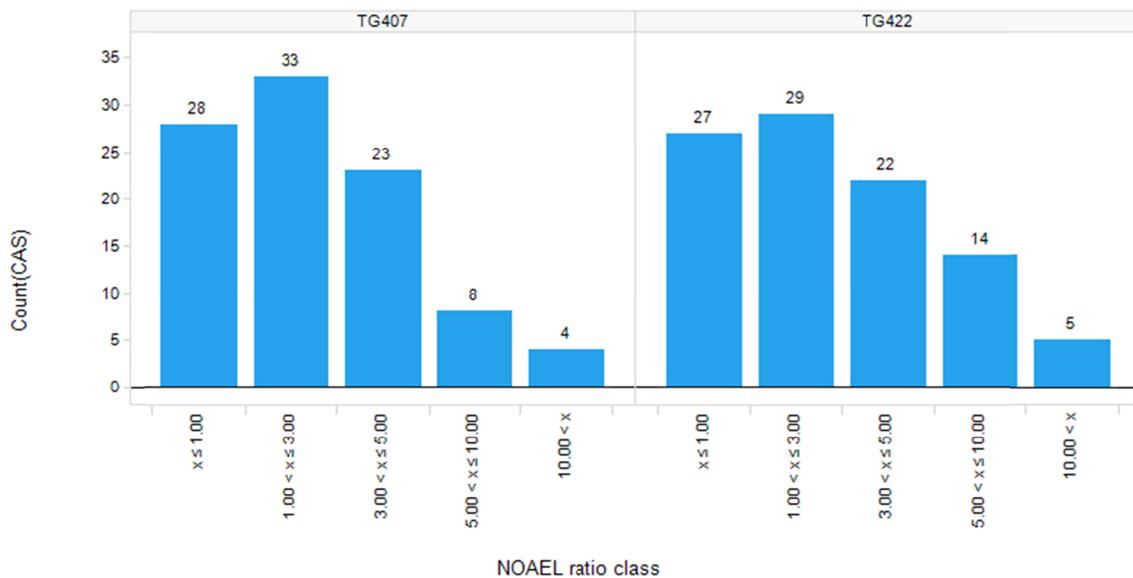


図2 14日間予備試験でNOELが求められた物質の14日間NOELと28日間NOELの比の分布

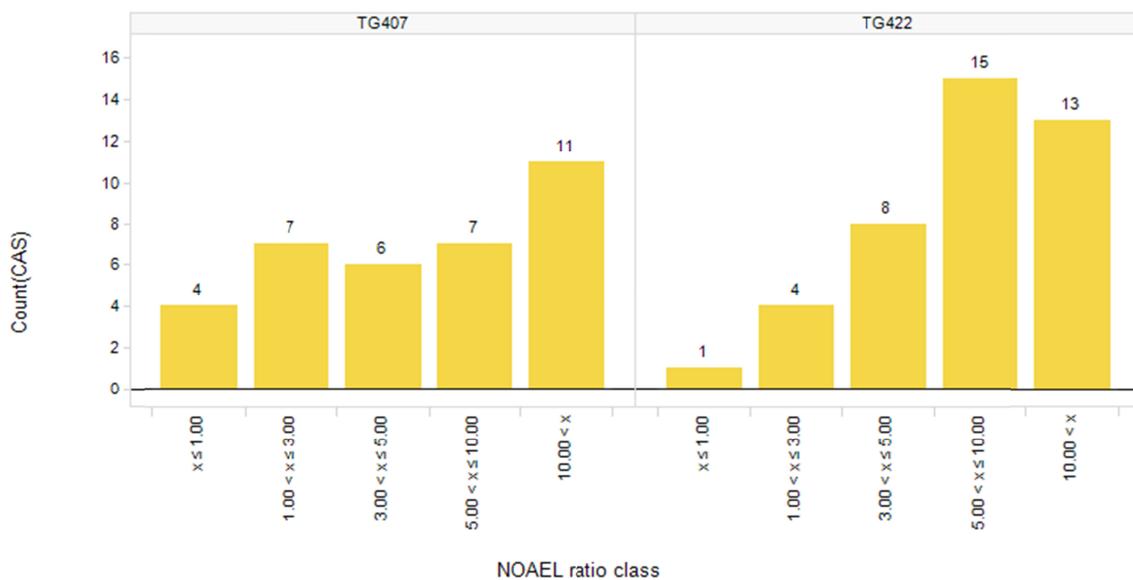


図3 14日間予備試験でNOELが求められなかった物質(TG407: 35, TG422: 41)の14日間LOELと28日間NOELの比の分布

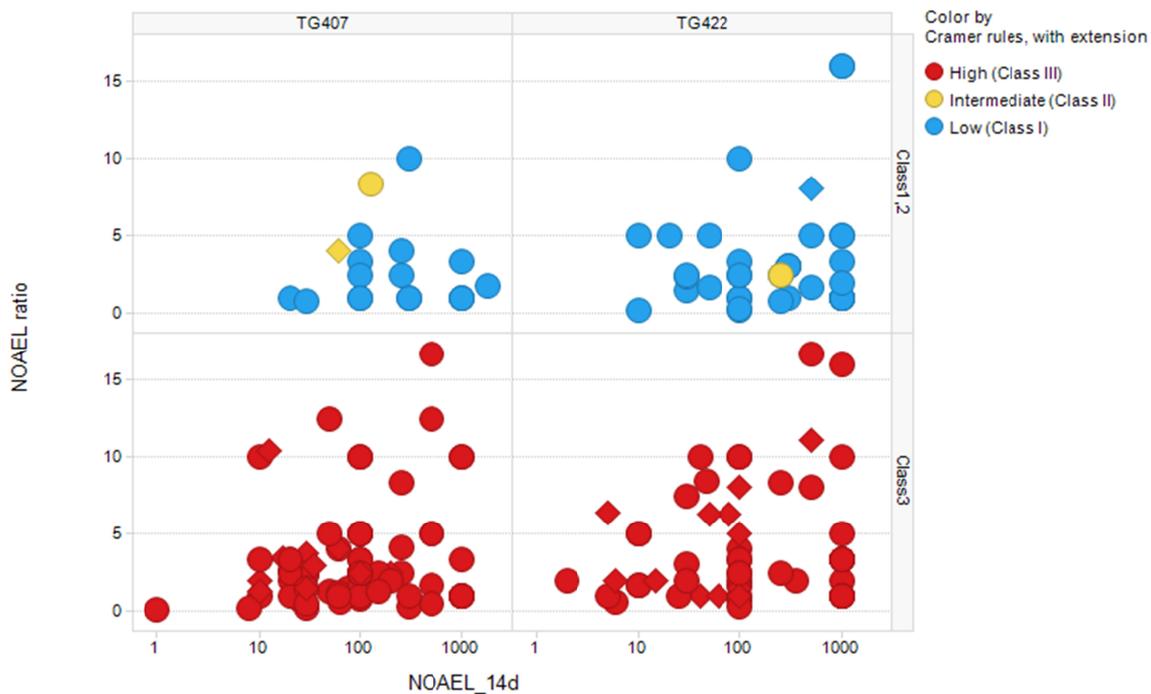


図4 Cramer ルールによる毒性クラス分類と NOAEL 比の関係

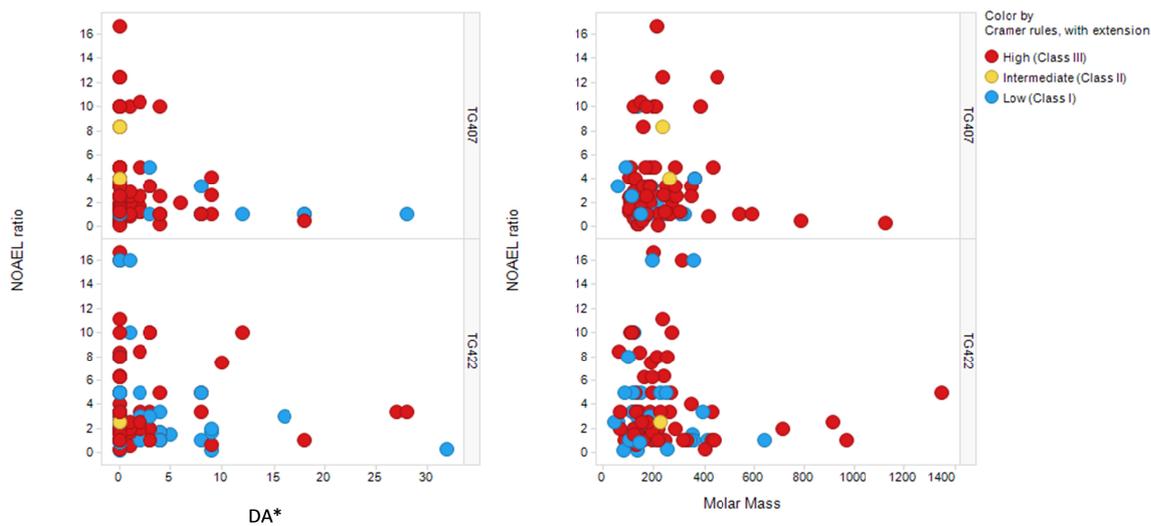


図5 化学構造から計算可能な基本的性質と NOAEL 比の関係

表1 Cremer 毒性クラス 1,2 で NOAEL 比 5 倍以上となった 28 日間試験(TG407)実施物質の毒性プロフィール

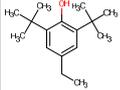
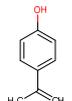
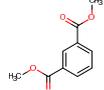
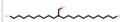
CAS RN	Chemical Name	NOAEL_28d (mg/kg/day) (dose level of main study)	Critical endpoint at LOAEL of main study	NOAEL_14d (mg/kg/day) (dose level of dose setting study)	Critical endpoint at LOAEL of dose setting study	NOAEL ratio (NOAEL_14d/ NOAEL_28d)	Chemical structure	Toxicity class of Cramer rules
4130-42-1	2,6-Bis(1,1-dimethylethyl)-4-ethylphenol	15 (15, 60, 250)	Liver:Hypertrophy, Thyroid:Hypertrophy, follicular cell(60m,f)	125 (125, 250, 500, 1000)	Liver, Kidney weight↑	8.3		Intermediate (Class II)
4286-23-1	4-(1-Methylethenyl)phenol	30 (30, 100, 300, 400)	Forestomach:Hypertrophy of squamous cells	300 (30, 100, 300)	-(LD50=600)	10.0		Low (Class I)

表2 Cremer 毒性クラス 1,2 で NOAEL 比 5 倍以上となった反復投与生殖発生併合試験(TG422)実施物質の毒性プロフィール

CAS RN	Chemical Name	NOAEL_28d (mg/kg/day) (dose level of main study)	Critical endpoint at LOAEL of main study	NOAEL_14d (mg/kg/day) (dose level of dose setting study)	Critical endpoint at LOAEL of dose setting study	NOAEL ratio (NOAEL_14d/ NOAEL_28d)	Chemical structure	Toxicity class of Cramer rules
90-02-8	2-Hydroxybenzaldehyde	10 (2.5, 10, 40, 160)	Liver:lipid droplet↓ (m), glycogen deposit↑(f) at 40mg/kg	100 (50, 100, 200, 400)	death(200(m1/5,f2/5), 400(m5/5,f4/5))	10.0		Low (Class I)
108-87-2	Methyl cyclohexane	62.5 (62.5, 250, 1000)	Cho (62.5m), Liver weight (1000m,f)	500 (200, 500, 1000)	Liver weight, TP,Cho↑(1000m,f)	8.0		Low (Class I)
1459-93-4	1,3-Benzenedicarboxylic acid, dimethyl ester	62.5 (62.5, 250, 1000)	Weak suppression of body weight increase was seen on female of reproductive test group at more than 250 mg/kg. But no effect on body weight of female of satellite group.	1000 (500, 1000)	-	16.0		Low (Class I)
58670-89-6	2-Decyl-1-tetradecanol	62.5 (62.5, 250, 1000)	PT, LDH (250m), UrinCl, K, Na (1000f)	1000 (100, 300, 1000)	-	16.0		Low (Class I)

平成 27 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

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	安全性予測評価部	部長
研究分担者	小野 敦	国立医薬品食品衛生研究所	安全性予測評価部	第一室長
研究協力者	山田 隆志	国立医薬品食品衛生研究所	安全性予測評価部	第四室長
研究協力者	高橋 美加	国立医薬品食品衛生研究所	安全性予測評価部	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	安全性予測評価部	研究員
研究協力者	川村 智子	国立医薬品食品衛生研究所	安全性予測評価部	研究員
研究協力者	Alex Cayley	ラーサ研究所		
研究協力者	Lilia Fisk	ラーサ研究所		
研究協力者	Sebastien Guesne	ラーサ研究所		
研究協力者	Rachael Tennant	ラーサ研究所		
研究協力者	Jonathan Vessey	ラーサ研究所		

要旨

H27 年度は、これまでの公表論文等のメカニズム情報を基に肝毒性アラートを作成する手法に代わる新たなアプローチとして、肝毒性エンドポイントに関連する key event モデルを予測し、生体内経路の攪乱に關与する化合物群のプロファイルと組み合わせることによる肝毒性の予測モデルの作成を行った。まず、肝毒性に関連する経路および Key Event を特定するために、in vitro 肝毒性データを収集した MIP-DILI プロジェクトの研究成果を基礎として MIE (molecular initiating event) を特定し、有害転帰経路 (AOP) に位置付けた。さらに、AOP wiki に収載された情報を用いて key event と AOP との相関関係を構築した。概念実証プロファイラーの作成には 2 種類のアプローチ (Derek Nexus のアラートパターンの利用と key event に関連する公開 in vitro アッセイデータに関連する化合物群との構造的類似性を利用したリードアクロス法) を採用した。次に key event モデルと化合物プロファイラーを関連づけ、KNIME 解析プラットフォームを用いて肝毒性の予測性能を評価した。反復投与毒性データセットをこのプロファイラーで処理して毒性予測を行った結果、感度は 57% で、特異度は 44% となった。さらに、高濃度でしか肝毒性を示さなかった化合物として LOAEL が 1000 mg/kg 超または 250 mg/kg 超となる化合物を除外するとモデルの感度はそれぞれ 63% および 71% に向上することが示された。さらに、物理化学的な記述子のカットオフとして分子量の 480 未満または ClogP-5 超を利用したところ、感度を同程度に維持したまま特異度が 44% から 58% に向上することができた。今後の研究では、感度と特異度の両方を向上させるため、偽陰性や偽陽性の化学物質クラス解析等

を行うことによって、様々な key event を予測する方法をさらに調査することが有用であることが示された。

A. 目的

本研究に先立つ研究において、げっ歯類反復投与毒性データセットを用いて作成した肝毒性のラビッドタイプアラートをフルアラートへと発展させる研究を行ってきており、Derek Nexus における検出感度を、7%から 40%に上昇させることに成功してきた。しかし、これまでの、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を用いて一つ一つアラートを検討するために相当の時間がかかることが問題点として挙げられてきた。そこで、今年度は、反復投与毒性の予測に対する新たなアプローチを確立し、これに基づいて肝毒性に関する概念実証モデルを作成することを試みることにした。まず、複数のモデルを作成して肝毒性エンドポイントに関連する生体内経路において攪乱される key event を予測することとした。さらにこれらのモデルを生体内経路の攪乱に関与する化合物群のプロファイルと組み合わせることにより、対象化合物の肝毒性の予測に活用できると考えた。

B. 方法

B-1 肝毒性に関連する経路および Key Event の特定：

肝毒性に関連する key event は、Lhasa 社によるプロジェクト (MIP-DILI プロジェクト) の一環として行われた研究を基礎として特定した。データは ChEMBL、PubChem などの様々な公開データソースから集められと共に Tox21 のデータセット (<http://www.ncats.nih.gov/tox21>) や他の公開データセット (Aleo et al., Thompson et al., Sakatis et al., Xu et al., Pedersen et al., Dawson et al., Morgan et al.) から得られたデータも含めた。次にこれらの key event および key event

に関して収集したデータを有害転帰経路 (AOP) に位置付けた。さらに、AOP wiki (https://aopkb.org/aopwiki/index.php/Main_Page) および公開文献 (Vinken et al., Mellor et al., Jennings et al.) に収載された AOP に関する情報を用いて、key event と AOP との相関関係を構築した。これによりその攪乱が肝毒性の原因になると考えられる経路のネットワークを特定し、経路に関する知識および key event と経路との相関関係を Cytoscape で記録した。(図 1)。

B-2 特定された経路における Key Event のモデル化：

• DX の構造アラートに収録された知識を用いたモデル作成

Key event の攪乱に関して DX 知識ベースに存在する広範な既存知識を利用するため、種々のエンドポイントに関するアラートを分析した。反応性に基づく情報が最も豊富と考えられた変異原性と皮膚感作のエンドポイントについて分析を行い、反応性に基づく新たな MIE (molecular initiating event) のエンドポイントに結び付けた。代謝活性化の必要性についても考慮し、アラートパターンの中に直接反応する化合物と代謝を必要とする化合物が混在していた場合には別々のアラートに分けた。また複数の機序により同一の毒性に至る化学クラスに関するアラートは、各 key event に関連づけた。さらに、他の関連 key event に関する変異原性アラートおよび皮膚感作アラートについても検討し、該当する key event エンドポイント (例：酸化剤、核酸塩基模倣作用など) を付与した。これらのアラートに関する分析に基づき、肝毒性 AOP につながると考えられ

るさらなる key event の相互作用を特定し、可能な場合にはアラートに付与した。さらに、ミトコンドリア機能障害などの key event を既に予測できる Derek のエンドポイントもモデルに含めた。

- **公開文献から得たデータを用いたリードア
クロスモデルの作成**

Derek の構造アラートにコード化された知識を用いた予測に加え、クエリー化合物とこれら key event に関連するアッセイから収集した公開データとの構造的類似性を利用したリードアクロス法を key event の予測に採用した。この作業はKNIME解析プラットフォームのフレームワーク内で実施した。

ある key event データセットに関連する化合物 1 つ以上に対して 0.7 以上の類似性を示したクエリー化合物について、当該 key event のフラグを付した。

B-3 肝毒性のエンドポイントをプロファイリングする Key Event モデルネットワークの作成

前述の 2 種類の方法で反復投与毒性データセットの key event プロファイリングを行った後、これらの手法で得た各化合物の結果を統合した。異なる手法で記述した key event の多くは同一のものであったが、結果においては別々のプロファイルとした。リードアクロス法で key event 予測を行ったものには語尾に「RA」を付した。

B-4 肝毒性の総合的予測を目的とした Key Event プロファイラーの結果の判定

反復投与データセットにおける化合物の key event プロファイリングで得た結果を統合し、各化合物の肝毒性を総合的に予測した。判定は保守的にいき、プロファイラーのいずれか一つの key event に関連していれば総合的予測は「陽性」と

した。いずれの key event にも関連のない化合物は肝毒性に関する総合的予測を「陰性」とした。

C. 結果

C-1 肝毒性に関連する経路および Key Event の特定。

前述の方法によって肝毒性のエンドポイントに関連すると現在特定されている経路および key event の概略は図 1 に示した。この図は経路可視化ツール Cytoscape のスクリーンショットであり、影響を及ぼすレベル(分子~組織)によって全ての key event を色分けして示している。Key event は証拠と結び付けられており、その矢印の太さは証拠の強さによって変えている。

このネットワークは、化学物質が「活性種」として肝臓に到達すると攪乱される可能性のある key event を示すものである。現時点では、化合物が標的臓器に到達するために必要な段階や標的臓器と相互作用を起こしたり不活化されたりするために必要な代謝などは考慮されていない。key event に関して構築したモデルおよびこのモデルを用いた肝毒性のエンドポイントの推定においては吸収、分布、代謝、排泄を一部考慮する必要があると考えられ、今後の研究で本ネットワークにも収録すべきである。また、このネットワークで用いた概念大系や用語、さらに key event を記述したレベルについてもまだ議論の余地があり、今後検討する必要がある。

C-2 特定された経路における Key Event のモデル化

- **DX の構造アラートに収録された知識を用いたモデル作成**

前述の key event の情報を確認するため既存の DX 知識ベースを解析し、肝毒性に関連したアラートと関連する key event のリストを作成した。DX 知識ベースで確認された key event および各 key event に関連するアラートの数を表 1 に示す。

なお key event の攪乱に代謝活性化を要する化合物クラスには (M) を付した。

割り当てられたアラートの数が最も多かった key event は反応型の MIE であるタンパク反応性求電子剤 (M)、DNA 反応性求電子剤 (M)、タンパク反応性求電子剤、DNA 反応性求電子剤であり、その多くは DX における変異原性アラートや皮膚感作アラートから得られた。またこれらのエンドポイントは酸化剤および酸化剤 (M) といった key event エンドポイントの主な原因でもある。ミトコンドリアへの影響は、「ミトコンドリア機能障害」のエンドポイントに対するアラートに加えて「アセチル CoA 欠乏」、「酸化阻害」といったより特異的な key event のアラートによっても示されている。

• 公開文献から得たデータを用いたリードア クロスモデルの作成

前述の方法で概説した基準を用いて構築したネットワーク内の key event に関連する公開データを確認し、30 の key event に関するデータを収集した。データが確認された key event を表 2 に示す。この表より、関連するアッセイで試験された化合物が比較的多い key event もあれば、ほとんどない key event もあることが分かる。例えばエストロゲン受容体 (ER) 結合に関するデータは 2233 化合物で存在するが、細胞毒性に関するデータは 6 化合物でしか存在しない。このことは明らかに各リードアクロスモデルがカバーする化学スペースに依存するが、予測対象化合物がどれか一つの構造に類似していればリードアクロスを行うことは可能であると考えられる。表 2 は後回情報の著者の基準に従い陽性と判断された化合物の数を示しており、リードアクロスにはこれらの化合物のみを用いた。大抵の場合、公開文献では陰性と判断されたり、基準を満たさなかったりする化合物が多くあったが、これらの化合物はリードアクロスや活性の判定には使用しな

った。また、リードアクロスからの陰性データポイントの除外は、クエリー化合物と類似する陰性化合物が陽性化合物と同じクラス内にある場合には当該クエリー化合物が key event をアクティブ化する可能性は否定できないという原則に基づいて行った。

• 肝毒性 Key Event プロファイラーによる反 復投与毒性データセットの解析

B-3 で示した方法で作成した key event モデルを用いて、反復投与毒性データセットにおける化合物の肝毒性を予測した。一つの key event に対してある予測対象化合物が適合した場合には、予測方法は問わず、当該化合物を陽性と予測するのに十分であるとみなした。この予測方法は非常に保守的であると考えられる。予測を行った結果を表 3 に示すが、高水準の予測性が得られた。これらの結果は、データセットに対する妥当な感度 (57%) および予測に関する明確な根拠説明が維持されていることを示している。一方、予測の特異性は低かった (44%)。予測に用いたモデルは ADME 特性を考慮しておらず、この ADME 特性により key event プロファイリングの過程で特定された key event の攪乱が無効化される可能性があるため、特異度の低さはある程度予期された。ADME を考慮に入れたポストフィルタリング等を行うことにより特異度性が向上する可能性がある。

感度は作成したモデルが既知の key event のどのくらいをカバーし、これら key event に関して得られた知識がどのくらい包括的であるかの指標となる。すなわち 57% という感度は肝毒性に至る key event に関して改善の余地があることを示しており、これを達成するため偽陰性を解析し当該化合物が key event プロファイラーで予測されなかった理由を特定することが必要である。

一方、肝毒性を有する可能性のある化合物の多くが、特異的な経路ではなく高濃度での曝露によって肝臓に広範な負担を与える結果毒性を発現

する可能性に着目した。このケースが今回の解析研究のデータに当てはまるか確認するため、高濃度でしか肝毒性を示さなかった陽性化合物（LOAELが1000 mg/kg超または250 mg/kg超）を除外して、予測モデルの感度にどのような影響が及ぶかも調査した。表3に示すように、LOAEL 1000 mg/kg超の化合物をカットオフとするとモデルの感度が向上し（63%）し、カットオフの基準を250 mg/kg超まで下げるとさらに感度が上がった（71%）。カットオフを250 mg/kgまで下げた場合に予測から除外された化合物の大部分は、偽陰性（FN）の化合物であった。

反復投与肝毒性データセットに関して種々のkey eventモデルで陽性と予測されたものを図2および図3に示す。図2はDXアラートから予測されたkey event、図3はリードアクロスで予測されたkey eventを示している。これらの図より、モデルが予測したkey eventの大部分が反応性に基づくkey event（タンパク反応性求電子剤、DNA反応性求電子剤など）が占めていた。酸化剤のkey eventも相当数の化合物に関して予測されている。一方、化合物のプロファイリングへのリードアクロスの寄与はずっと小さい（Figure 3）。またこれらのkey eventモデルが真陽性化合物の予測数と同程度の偽陽性化合物数も予測していた。各key eventモデルの陽性率の高さから、核内受容体結合に関連するモデルの多く、およびグルタチオン枯渇や付加物形成に関連するkey eventモデルは肝毒性のエンドポイントを良好に予測することが示された。一方、求電子反応に関連するkey eventモデルの陽性適中率は低く、これは同key eventモデルがADME特性を考慮していないことが原因と考えられた。

● 偽陰性の調査

偽陰性（FN）の解析では、構造解析ツール（Mercury）およびヒトの視覚的分析によるクラスタリングを行い、1）クラス内に3種以上の化

合物、2）陽性適中率50%超のものを選別した結果、18の化合物クラス（合計124物質）が選択された。各化学クラスに関連する肝毒性に関する毒性データおよび機序を探索した。各化学クラスに関する毒性データは、ChemIDPlus、HESS、Googleなどの公開されているデータベースで検索した。その結果、12のクラスには毒性と関連するデータを取得することができなかったが、4つのクラスは、既存のkey event（エストロゲン受容体、酸化剤、反応性求電子剤、酸化阻害など）に関連する化合物と構造が類似しており、これまでの化学構造の範囲のGAPを補える可能性が示された。また一つクラスは（サリチル酸またはアナロと類似）は新たなMIEを開発できる可能性を示した。残りの一つは動物実験による肝毒性との関連性は低いことが想定された。これらの解析は、予備的な段階であり、今後より詳細な情報収集を行って、肝毒性と関連するアラート構築に向けた研究が必要である化学物質リストとなるものと考えられた。

● 偽陽性の調査

前述のように、反復投与毒性データセットに対する肝毒性key eventプロファイラーの感度は良好であった一方で本モデルの特異度（44%）には改善の余地がある。これらは、ADME特性や、代謝による肝毒性の無毒化の可能性を考慮していないことに起因すると考えられた。そこで、ADME特性を表現することのできるような包括的な記述子を予備的に調査した。プロファイラーの一つ以上のkey eventに関連づけられていることを根拠として肝毒性を有すると予測された全ての化合物に関し、分子量、ClogP、極性表面積（TPSA）および化合物がLipinski's rule of 5から外れた回数を計算した。次に化合物を真陽性（実験に基づき陽性）と偽陽性（実験に基づき陰性）に分け、前述の記述子についてこれら2つの群の区別に用いることのできるカットオフを見出すための解析を行った。その結果、ほとんどの

記述子で実験に基づき陰性である化合物を除外し陽性化合物の除外は最小限とするカットオフを選択することができた。ADME 特性の観点からは非常に大きい化合物は容易に吸収されないであろうと考えられると同様に、高親水性の化合物も吸収されるとは考えにくい。記述子ごとに異なるカットオフが真陽性と偽陽性の区別に及ぼす影響を表 4 に示した。真陽性をあまり除外することなく大部分の偽陽性を除外するという点では、分子量のカットオフが最善の区別方法であると考えられた。さらに分子量と ClogP の最小値を組み合わせるとより多くの偽陽性を除外することができた。これらの記述子によるカットオフをポストフィルタとして組み入れた後のモデルの予測性能は表 5 に示した。この表より、いずれの場合にも感度の低下は最小限で特異度が上昇し、結果として balanced accuracy も上昇した。

D. 考察

今回の解析で化合物が肝毒性に関連する経路の key event を攪乱する可能性を予測することは、当該化合物が肝毒性を誘発する可能性をプロファイリングする方法として有望であることが示された。このネットワークを用いて反復投与毒性データセットにおける肝毒性を有する化合物の大部分 (57%) を確認することができ、さらにこの特定により、攪乱する key event ごとに当該化合物が活性を示すと考えられた根拠に関する知見も得ることができた。一方、プロファイラーによる肝毒性予測の特異度は比較的低かったが、これは肝毒性に至ると仮定した相互作用を妨げる可能性のある因子 (例、ADME 特性) を考慮していなかったことによるものであることは想定された。この特異度が少なくとも活性に関する基礎的な ADME の要件をモデル化した単純な記述子とカットオフを用いることで改善できることは、既に予備的調査で明らかにした。また、偽陰性を分析した結果、ネットワークで予測されない NIHS デ

ータセットにおける化学クラスの多くが未知の機序により肝毒性を発現する可能性が示された。これは、肝障害を引き起こすものとして本研究で採用した MIE が主として医薬品に関して調査されているものを基にしていることが原因と考えられた。今後の研究では、予測の正確度および適中率を向上 (従って、感度と特異度の両方を向上) させるため、様々な key event を予測する方法をさらに調査することが有用であろう。また、プロファイラーが「正しい」理由によって正しい予測を導いているかをさらに検討 (すなわち、化合物の肝毒性に関して妥当な根拠を確認) し、さらに潜在的な危険有害性が肝毒性のリスクに変換されるのかを予測するため化合物の物理化学的性質を用いてモデルの特異度を向上させることも有益であると考えられる。最後に、現行のシステムでは未だモデル化されていない肝毒性に関連する key event および経路を特定、モデル化することによってモデルの感度を向上させることも可能であると考えられた。

E. 結論

H27 年度は、これまでの公表論文等のメカニズム情報を基に肝毒性アラートを作成する手法に代わる新たなアプローチとして、肝毒性エンドポイントに関連する key event モデルを予測し、生体内経路の攪乱に関与する化合物群のプロファイリングと組み合わせることによる肝毒性の予測モデルの作成を行った。予測モデル作成のための解析には KNIME プラットフォームを用い化合物プロファイラーを作成した。反復投与毒性データセットをこのプロファイラーで処理して毒性予測を行った結果、感度は 57% で、特異度は 44% となった。さらに、高濃度でしか肝毒性を示さなかった化合物を除外するとモデルの感度は 71% まで向上することが示された。さらに、分子量の 480 未満または ClogP-5 超という物理化学的記述子のカットオフを適用したところ、感度を同程度に維持したまま特異度を 58% に向上することができ

た。今後は、偽陰性や偽陽性の化学物質クラスの解析等を行うことによって、様々な key event を予測する方法をさらに調査することが有用であることが示された。

F. 研究発表

1. 論文発表

Hirata-Koizumi, M., Fujii, S., Kato, H., Matsumoto, M., Takahashi, M., Ono, A. and Hirose, A., Repeated dose and reproductive/developmental toxicity of long-chain perfluoroalkyl carboxylic acids in rats: perfluorohexadecanoic acid and perfluorotetradecanoic acid. *Fundam. Toxicol. Sci.*, 2, 177-190, 2015.

Ono, A., Kobayashi, K., Serizawa, H., Kawamura, T., Kato, H., Matsumoto, M., Takahashi, M., Hirata-Koizumi, M., Matsushima, Y. and Hirose, A., A repeated dose 28-day oral toxicity study of β -bromostyrene in rats *Fundam. Toxicol. Sci.*, 2, 191-200, 2015.

Canipa S, Cayley A, Drewe WC, Williams RV, Hamada S, Hirose A, Honma M, Morita T. Using in vitro structural alerts for chromosome damage to predict in vivo activity and direct future testing. *Mutagenesis*. 2016 31: 17-25.

高橋美加、松本真理子、宮地繁樹、菅谷芳雄、長谷川隆一、小林克己、平田睦子、小野敦、広瀬明彦. OECD 化学物質対策の動向(第26報) - 第6回 OECD 化学物質共同評価会議(2014年パリ) 化学生物総合管理, 11, 28-36, 2015

松本真理子、清水将史、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6回化学物質共同評価会議概要 化学生物総合管理, 11, 37-45, 2015.

2. 学会発表

Hirose A. Japanese Current Chemical Regulation and Contribution to the OECD Cooperative Chemicals Assessment Programme (CoCAP). The 7th International Congress of Asian Society of Toxicology. (2015.7. チェジュ、韓国)

Hirose A, Hirata-Koizumi M, Kawamura T, Matsumoto M, Takahashi M, Nishimaki-Mogami T, Nishimura T, Ema M, Ono A. Derivation of subacute reference doses for drinking water quality management. The 51st Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX 2015) (2015.9. ポルト, ポルトガル)

Ono, A., Matsumoto, M., Takahashi, M., Kawamura, T., Hirata-Koizumi, M. and Hirose, A. 2015. Is a 14-day dose setting study able to predict its 28-day repeated dose toxicity? The 51st Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX 2015) (2015.9. ポルト, ポルトガル)

Hirose A. Metal contaminants in drugs: ICH point of view. The 9th Congress of Toxicology in Developing Countries. (2015.10. ナタール, ブラジル)

Nishimura T, Hirata-Koizumi M, Yamada T, Kawamura T, Ono A, Hirose A, Ema M. Derivation of the health advisory guidance values for sub-acute exposure of drinking water. The Society of Toxicology 55th Annual Meeting (SOT 2016) (2016.3. ニューオリンズ)

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

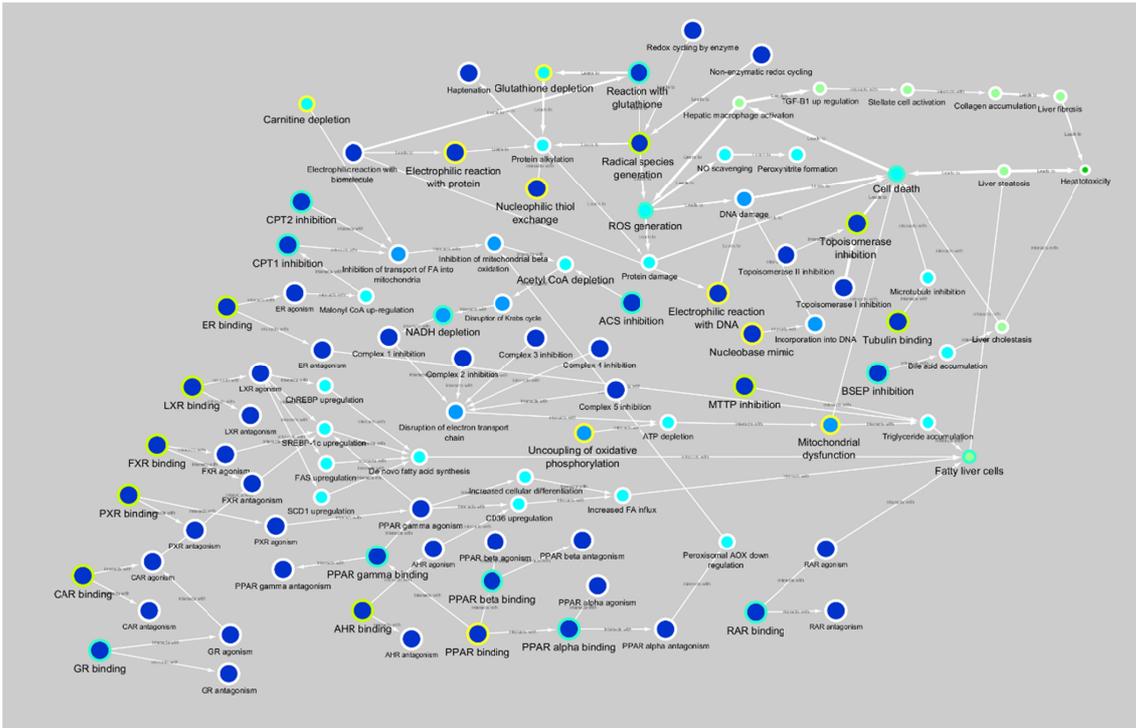


図 1. 経路可視化ツール Cytoscape でモデル化した肝毒性の発現に関連する key event ネットワークのスクリーンショット。

各点は分子レベル、細胞小器官レベル、細胞レベル、組織レベル、臓器レベルで色分けされている。点の周囲が黄色でハイライトされている key event は DX の構造アラート、濃緑色のハイライトはリードアクリル (RA)、黄緑色のハイライトは DX と RA の両方を用いてモデル化された。

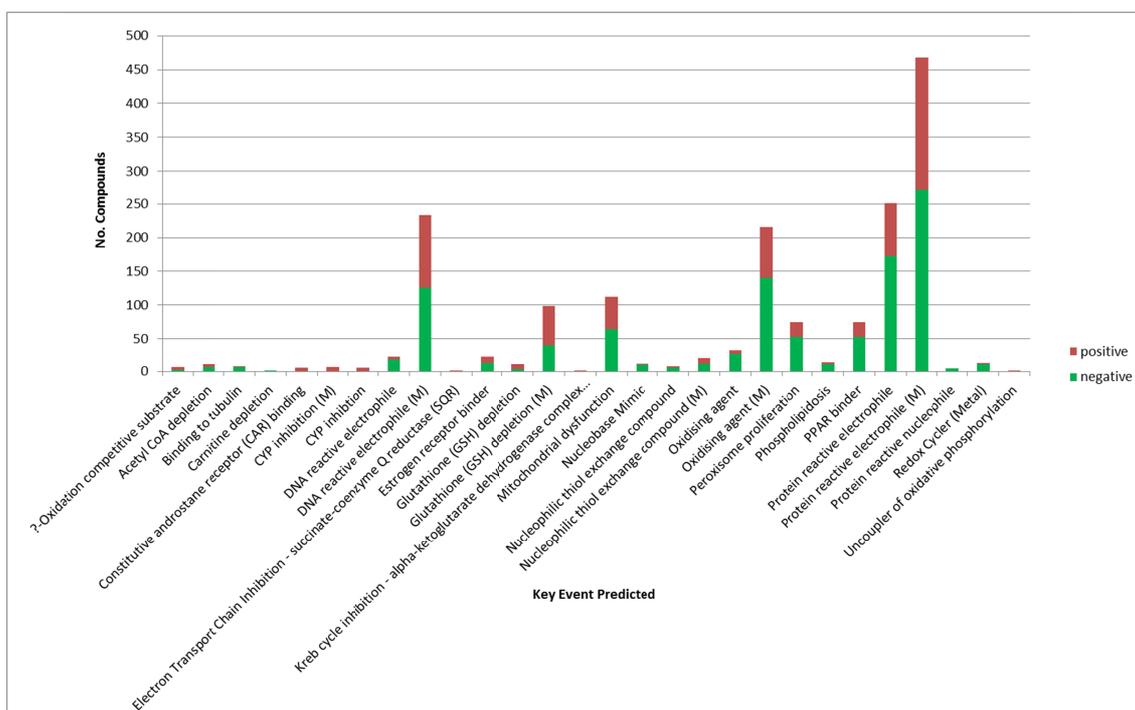


図 2 . KeyEvent 毎の反復投与毒性 DB における肝毒性の陽性物質数および陰性物質数

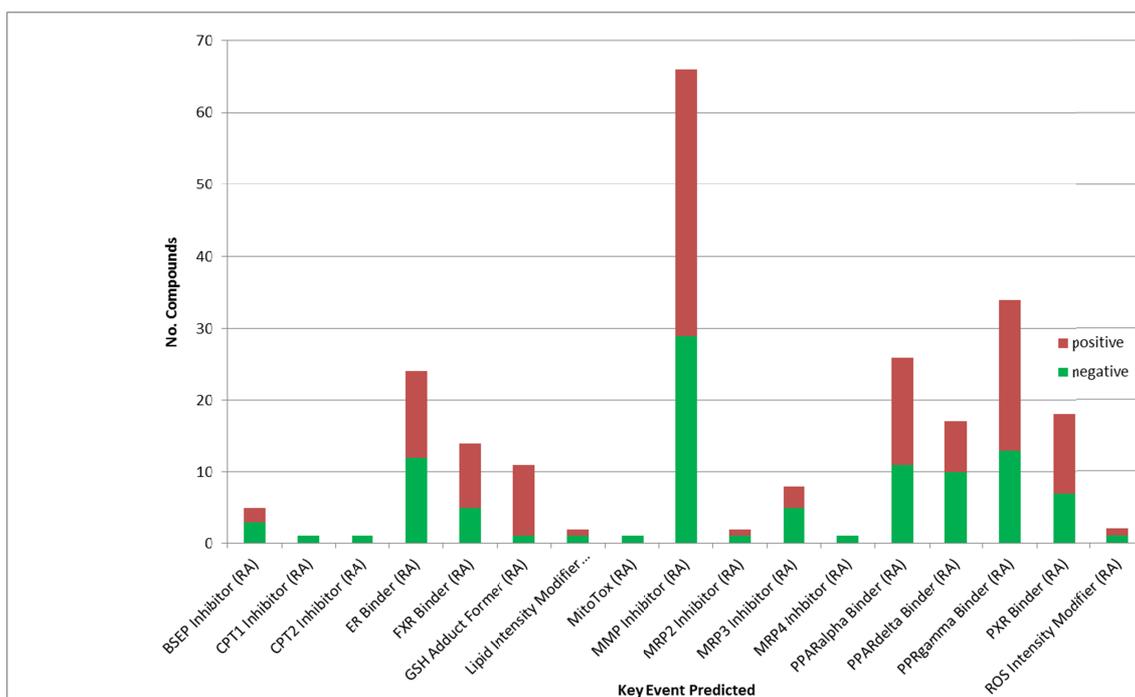


図 3 . リードアクロス解析における KeyEvent 毎の反復投与毒性 DB における肝毒性の陽性物質数および陰性物質数

表 1 . 肝毒性に関連づけられた DX に記載されている Key Events

Key Event	No. Alerts Predicting Event
Protein reactive electrophile (M)	61
DNA reactive electrophile (M)	58
Protein reactive electrophile	51
DNA reactive electrophile	44
Mitochondrial dysfunction	24
Oxidising agent	20
Oxidising agent (M)	20
Estrogen receptor binder	17
Glutathione (GSH) depletion (M)	14
PPAR binder	7
Peroxisome proliferation	7
Phospholipidosis	5
Nucleobase Mimic	4
Uncoupler of oxidative phosphorylation	4
Acetyl CoA depletion	3
Aryl hydrocarbon receptor binder	2
CYP inhibition (M)	2
Electron Transport Chain Inhibition	2
Microsomal Triglyceride Transfer Protein (MTTP) antagonist	2
Nucleophilic thiol exchange compound (M)	2
β -Oxidation competitive substrate	2
β -Oxidation inhibition	2
3-Hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase inhibition	1
Angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitor	1
Bile transport competitive substrate (M)	1
Binding to tubulin	1
CYP inhibition	1
Carnitine depletion	1
Carnitine palmitoyltransferase I inhibition	1
Chelation of metal ions	1
Constitutive androstane receptor (CAR) binding	1
Electron Transport Chain Inhibition - succinate-coenzyme Q reductase (SQR)	1
Glutathione (GSH) depletion	1
Inhibition of RNA polymerase (M)	1
Krebs cycle inhibition - alpha-ketoglutarate dehydrogenase complex inhibition	1
Low density lipoprotein (Lys-adduct) reactive electrophile (M)	1
Nucleophilic thiol exchange compound	1
Protein reactive nucleophile	1
RNA reactive electrophile (M)	1
Redox Cyler (Metal)	1

表 2 公表文献から得られた肝毒性に関連する KeyEvents と
リードアクロスに用いた陽性化合物数

Key Event	No. of Positive Compounds Reported
ER Binder (RA)	2233
GR Binder (RA)	1853
Tubulin Binder (RA)	705
LXR Binder (RA)	664
Topoisomerase Inhibitor (RA)	582
RXR Binder (RA)	408
MMP Inhibitor (RA)	385
RAR Binder (RA)	235
BSEP Inhibitor (RA)	213
AHR Binder (RA)	197
MTTP Binder (RA)	185
MRP2 Inhibitor (RA)	179
NADH Depletor (RA)	133
PXR Binder (RA)	122
FXR Binder (RA)	98
GSH Adduct Former (RA)	97
MRP4 Inhibitor (RA)	83
PPRgamma Binder (RA)	77
P450 Inhibitor (MDI assay) (RA)	74
MitoTox (RA)	53
CAR Binder (RA)	50
CPT1 Inhibitor (RA)	39
PPARdelta Binder (RA)	36
ROS Intensity Modifier (RA)	32
MRP3 Inhibitor (RA)	30
Lipid Intensity Modifier (RA)	25
PPARalpha Binder (RA)	22
CPT2 Inhibitor (RA)	20
CYP Inhibitor (RA)	10
CytoTox Causing (RA)	6

表 3・ 肝毒性 Key Event プロファイラーによる反復投与毒性データの予測性

陽性 Cut-Off	BA (%)	A (%)	Sen. (%)	Spec. (%)	PPV (%)	NPV (%)	Total	TP	FP	TN	FN
All Data	50	49	57	44	38	63	1458	310	511	402	235
>1000 mg/kg を除 外	54	51	63	44	37	70	1389	301	511	402	175
>250mg/kg を除外	57	52	71	44	35	78	1308	280	511	402	115

表 4・ 物理化学的記述子のカットオフが偽陽性の数に及ぼす影響

Descriptor	Cut-off	TP	FP
None	n.a.	310	511
ClogP	-5 to 10	296	437
TPSA	<150	299	416
MW	<580	295	391
Lipinski's rules	<3	302	469
MW, ClogP	MW<580, ClogP>-5	295	387

表 5・ 分子量と ClogP 値のカットオフを適用した場合の反復投与毒性データの予測性

陽性 Cut-Off	BA (%)	A (%)	Sen. (%)	Spec. (%)	PPV (%)	NPV (%)	Total	TP	FP	TN	FN
All Data	56	56	54	58	43	68	1458	295	387	526	250
>1000 mg/kg を除 外	59	58	60	58	42	73	1389	286	387	526	190
>250mg/k g を除外	62	61	67	58	41	80	1308	266	387	526	129

平成 27 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：In vivo 遺伝毒性試験 QSAR の開発

In vivo 遺伝毒性試験のデータベース構築と発がん性感受性の検証

研究分担者 森田 健 国立医薬品食品衛生研究所安全性予測評価部 第三室室長
研究協力者 増村 健一 国立医薬品食品衛生研究所変異遺伝部 第三室室長

要旨

大規模な in vivo 遺伝毒性試験（赤血球小核試験(in vivo MN)およびトランスジェニック齧歯類遺伝子突然変異試験(in vivo TGR)）データベースを構築し、各試験単独ならびに他の試験と組合せた場合の発がん物質検出性、および遺伝毒性指標を同じくする in vitro 試験と in vivo 試験間の一致性を評価した。CGX DB による 756 の齧歯類発がん物質と 183 の非発がん物質について、in vivo MN では 379 物質（293 の発がん物質、86 の非発がん物質）、in vivo TGR では 80 物質（76 の発がん物質、4 の非発がん物質）の知見が得られ、感受性および特異性は、in vivo MN で 41.0%および 60.5%、in vivo TGR で 72.4%および“計算せず（nc、あまりにも少ない非発がん物質データのため）”であった。また、各種の遺伝毒性試験との組合せにおける感受性/特異性は、Ames + in vivo MN で 68.7%/45.3%、Ames + in vivo TGR で 83.8%/nc、Ames + in vitro 染色体異常試験 (CA) + in vivo MN で 80.8%/21.3%、Ames + in vitro CA + in vivo TGR で 89.1%/nc、Ames + in vivo MN + in vivo TGR で 87.5%/nc、Ames + in vitro CA + in vivo MN + in vivo TGR で 89.3%/nc であった。Ames + in vitro CA に比べ、Ames + in vivo MN は、比較的バランスのとれた感受性/特異性（74.3%/37.5%）を示した。また、in vivo MN と in vitro CA の一致性は 50.3%、in vivo TGR と Ames の一致性は 79.5% であった。これらの in vivo 知見あるいは in vitro/in vivo 試験間の相違に関する知見を（定量的）構造活性相関（QSAR）に組み込むことが精度向上に必要と考えられた。

A. 研究目的

遺伝毒性の 1 つの指標である染色体異常誘発性については、in vitro 試験では陽性を示すものの in vivo 試験では陰性となるケースが多く知られている。そのため、より精度の高い染色体異常予測率を示す QSAR

モデルの構築には、in vivo 試験の発がん物質感受性を評価し、in vitro と in vivo 試験間のギャップの要因を検証することが必要と考えられる。そのため、756 の齧歯類発がん物質および 183 の非発がん物質（計 939 物質）を網羅したカークランドの CGX デー

データベースに、2種の in vivo 遺伝毒性試験、すなわち MN と TGR のデータを加え、拡張 CGX データベースを構築し、それら in vivo 遺伝毒性試験の単独あるいは他の試験との組合せによる発がん物質検出の感受性・特異性を評価する。付随的に、Ames 試験および in vitro 染色体異常試験 (CA) のデータも収集し、これまでに構築した CGX データベースの更新を図る。さらに、遺伝毒性指標を同じくする in vitro/in vivo 試験間のデータ比較から、より信頼性の高い in vitro および in vivo 遺伝毒性試験 QSAR の開発を目指す。

B. 研究方法

B.1. 使用データベース

カークランドらによる発がん性・遺伝毒性データベース (CGX DB、ver. 2、2007 年 4 月、<https://eurl-ecvam.jrc.ec.europa.eu/databases/genotoxicity-carcinogenicity-db>) を用いた。CGX DB は、756 の齧歯類発がん物質と 183 の非発がん物質について、CAS 番号、構造式、化学物質クラス、DEREK アラートおよび 4 種の in vitro 遺伝毒性試験結果 (Ames, MLA, in vitro MN, in vitro CA) が収載されている。

B.2. In vivo 遺伝毒性試験データの検索

In vivo MN に関するレビュー論文あるいは大規模試験報告書、EU リスク評価書や OECD SIDS 文書などの国際的化学品評価文書、US NTP のデータベースサーチ、ならびに PubMed 文献サーチを用いた (表 1)。また、in vivo TGR については、OECD のレビュー文書 (Detailed review paper on transgenic rodent mutation assays, Series on testing and assessment, Number 103, OECD, Paris, July 23, 2009. ENV/JM/MONO(2009)7,

[http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2009\)7&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2009)7&doclanguage=en)) および食品添加物の遺伝毒性試験報告書 (厚生労働省、2008~2012 年、非公表) ならびに PubMed 文献サーチを用いた。なお、in vivo 遺伝毒性試験に関するデータ収集の過程で、新たに Ames および in vitro CA のデータが認められた場合には、CGX DB に追加、更新して反映させた。

B.3. データの評価

試験結果は CGX DB (2005 年版) における記載に基づき以下の 4 つに分類した。すなわち、+ : 陽性、- : 陰性、E (equivocal、不明確): 反応が弱いものや試験間あるいは試験施設間での再現性が認められないなどのあいまいな結果、および TC (technically compromised、技術的に問題あり): 試験の適切性において、本質的な基準的規範に適合していないことなどにより試験結果に疑問がある。なお、in vivo 試験において TC に該当する要因の 1 つに、標的臓器の曝露が挙げられるが、今回利用した情報源のすべてが標的臓器曝露に関する知見を収載しているものではないため、in vivo 試験に対しては、TC は適用しなかった。また、in vivo TGR における陽性 (+) の意味は、少なくとも 1 つの発がん標的部位で陽性、陰性 (-) の意味は、TGR で評価したすべての発がん標的部位で陰性、である。なお、陽性および陰性は、その内容によって細分化した。すなわち、+^ : TGR で陽性だが発がん標的部位ではない、-^ : TGR 陰性だが発がん標的部位ではない。なお、in vitro CA において、10 mM 超および 2 mg/mL 超の濃度での陽性の知見は、現行のガイドライン規定を超える過剰な高用量における陽性知見のため、陰性と判断した。すなわち、CGX DB (2005 年版) で in vitro CA 陽性と評価さ

れた 12 物質(7 つの発がん物質および 5 つの非発がん物質)は、本解析では陰性と評価した。

C. 研究結果

C.1. 収集された in vivo 遺伝毒性試験データ

CGX データセットについて認められた in vivo 遺伝毒性試験データは、in vivo MN においては 379 物質(発がん物質 293、非発がん物質 86)であり、うち、発がん物質および非発がん物質について、それぞれ陽性が 120 および 24 物質、陰性が 162 および 52 物質、不明確が 11 および 10 物質であった(表 2)。また、in vivo TGR おいては 80 物質(発がん物質 76、非発がん物質 4)が認められたが、非発がん物質のデータは極めて少なくそれらはすべて陰性であった。76 の発がん物質については、陽性が 55 物質、陰性が 21 物質であった(表 2)。なお、収集・整備したデータを CGX DB の発がん物質については Appendix 1 に、非発がん物質については Appendix 2 にまとめた。

In vivo MN における特記すべき個別物質の評価は以下のとおり：

発がん物質

- ID C17, Acrylonitrile (陰性)
ラット静脈内 (iv) 投与による陽性知見が認められたが、マウス iv 投与を始め他の試験で陰性であったことから、陰性と評価した。
- ID C179, Chlorpromazine hydrochloride (陽性)
低体温による陽性知見とされており、閾値のある二次的な遺伝毒性作用様式 (MOA) と考えられるが、ハザードとしては陽性と評価した。
- ID C197, C.I. Sovent yellow 3 (o-aminoazotoluene) (陽性)
種差が認められ、マウスで陽性、ラッ

トで陰性であった。マウスの陽性知見をハザードとして重視した。

- ID C246, 1,2-dibromoethane (不明確、E)
投与経路差が認められ、経口投与および腹腔内 (ip) 投与では陰性であったが、吸入投与では陽性であった。標的臓器曝露や代謝などの妥当性評価が困難であることから不明確とした。
- ID C285, 3,3'-dimethoxybenzidine 2HCl (陰性)
本物質のデータは認められなかったが、遊離塩基 (119-90-4) の陰性知見に基づいた。
- ID C378, Haloperidol (陽性)
マウスでは低体温による陽性知見とされている。ラットでは陰性知見がある。ハザードとして陽性と評価した。
- ID C439, Mercuric chloride (陽性)
種差が認められ、マウスで陽性、ラットで陰性であった。マウスの陽性知見をハザードとして重視した。
- ID C466, 4,4'-methylenedianiline 2HCl (陽性)
本物質についての陽性知見に基づいたが、遊離塩基 (101-77-9) については陰性とされている。
- ID C478, 4-(methylnitrosamino)-1-(3-pyrridyl)-1-(butanone) (NNK) (不明確)
陰性と陽性の知見がそれぞれ 1 つずつある。陽性知見は、マウスにおける 52 週間の皮下投与によるものであり、妥当性評価が困難であることから不明確とした。
- ID C509, Sodium nitrite (不明確)
陰性と陽性の知見がそれぞれ 1 つずつあり、妥当性評価が困難であることから不明確とした。なお、OECD の SIDS では陽性と評価している。

- ID C631, Phenylhydrazine HCl (陽性)
本物質のデータは認められなかったが、遊離塩基 (100-63-0) の陽性知見に基づいた。
- ID C657, Pyrimethamine (陽性)
種差が認められ、マウスで陰性、ラットで陽性であった。ラットの陽性知見をハザードとして重視した。
- ID C660, Reserpine (陽性)
マウスでは低体温による陽性知見とされている。ラットでは陰性知見がある。ハザードとして陽性と評価した。
- ID C672, Sodium dichromate (陽性)
投与経路差が認められ、ip 投与では陽性であったが、経口投与では陰性であった。標的臓器曝露や代謝などの妥当性評価は困難であるものの、ハザードとして陽性と評価した。
- ID C676, Styrene (陽性)
種差が認められ、マウスで陽性、ラットで陰性であった。マウスの陽性知見をハザードとして重視した。
- ID C711, o-Toluidine (陽性)
種差が認められ、マウスで陰性、ラットで陽性であった。ラットの陽性知見をハザードとして重視した。

非発がん物質

- ID NC8, dl-Amphetamine sulfate (陽性)
本物質のデータは認められなかったが、遊離塩基 (300-62-9) の陽性知見に基づいた。
- ID NC73, EDTA, trisodium salt trihydrate (陰性)
本物質のデータは認められなかったが、disodium salt (6381-92-6) の陰性知見に基づいた。なお、disodium salt において陽性知見も認められたが、EURAR では信頼性の低い知見とし、

陰性と結論付けている。

- ID NC91, Sodium fluoride (不明確)
カークランドらの総説³⁾での評価は単一の陽性知見に基づき陽性と評価しているが、他に3つの陰性知見が認められたため、不明確とした。
- ID NC138, Phenol (陽性)
低体温による陽性知見とされている。ハザードとして陽性と評価した。

また、in vivo TGR において+[^](TGR で陽性だが発がん標的部位ではない)とされた6物質ならびに-[^](TGR 陰性だが発がん標的部位ではない)とされた4物質(計10物質、いずれも発がん物質)の評価対象臓器は以下のとおり：

+[^](TGR で陽性だが発がん標的部位ではない)

- ID C244, 1,2-dibromo-3-chloropropane
TGR は、精巣で陽性だが、肝臓で陰性。発がん標的臓器は、ラットでは鼻腔、口腔、胃、副腎および乳腺、マウスでは肺、鼻腔および胃。
- ID C246, 1,2-Dibromoethane
TGR は、鼻粘膜および精巣で陽性だが、肺および肝臓で陰性。発がん標的臓器は、鼻腔、腹腔、下垂体、胃、肝、肺および乳腺。
- ID C340, Ethyl methanesulphonate
TGR は、骨髄、精巣上体精子および肝臓で陽性だが、脳および小腸で陰性。発がん標的臓器は、腎、肺および胸腺。
- ID C457, 3-methylcholanthrene
TGR は、肝臓で陽性。発がん標的臓器は、肺、および胸腺。
- ID C492, Mitomycin C
TGR は、骨髄および肝臓で陽性だが、小腸および精巣で陰性。発がん標的臓器は、小腸、乳腺および腹腔。

- ID C702, Thio-tepa
TGR は、脾臓リンパ細胞で陽性。発がん標的臓器は、耳/ジンバル腺、造血系、皮膚、乳腺および包皮腺。

-^(TGR陰性だが発がん標的部位ではない)

- ID C17, Acrylonitrile
TGR は、骨髄、脳、肺および脾臓リンパ細胞および精巣生殖細胞で陰性。発がん標的臓器は、耳/ジンバル腺、神経系、口腔、小腸、乳腺および鼻腔。
- ID C257, 1,2-Dichloroethane
TGR は、肝臓および精巣で陰性。発がん標的臓器は、胃、皮下組織、血管系、乳腺、肺および子宮。
- ID C489, Metronidazole
TGR は、胃で陰性。発がん標的臓器は、下垂体、精巣、肝、乳腺、肺および造血系。
- ID C683, SX Purple
TGR は、肝臓および胃で陰性。Carcinogenic Potency Database では、明確な発がん標的臓器は示されていない。

C.2. 感受性・特異性解析

Ames および in vitro CA の感受性、特異性および一致性を表 3 に示す。E (不明確) を陽性にも陰性にも計数しなかった場合、Ames の感受性は 59.0% (321/544)、特異性は 73.9% (130/176)、一致性は 62.6% (451/720) であった。In vitro CA では、それぞれ 62.8%(225/658) 48.5%(66/136) および 58.9%(291/494) であった。で良好といえるものではなかった。これらの値はカークランドらによる最初の CGX DB に基づく報告と同様であった (Ames ではそれぞれ 58.8%、73.9% および 62.5%、in vitro CA ではそれぞれ 65.6%、44.9% および 59.8%)。In vivo MN および in vivo TGR

の感受性、特異性および一致性を表 2 に示す。E (不明確) を陽性にも陰性にも計数しなかった場合、in vivo MN の感受性は 41.0%(120/293)、特異性は 60.5%(52/86)、一致性は 45.4% (172/379) であった。一方、in vivo TGR の感受性は、72.4%(55/76) と比較的高いものであった。なお、in vivo TGR においては、非発がん物質に対するデータが合計 4 件と極めて少なかったため、特異性ならびに一致性については計算しなかった。

また、Ames と in vitro CA を組合せた場合の感受性および特異性をそれぞれ表 4 および表 5 に示した。発がん物質について Ames と in vitro CA の両試験を実施して、少なくとも 1 つの試験で陽性となる感受性は 74.3% であった。一方、非発がん物質について Ames と in vitro CA の両試験を実施して、両方の試験で陰性となる特異性は 37.5% であった。Ames と in vivo MN を組合せた場合の感受性および特異性をそれぞれ表 6 および表 7 に示した。発がん物質について Ames と in vivo MN の両試験を実施した場合の感受性 (少なくとも 1 つ試験で陽性) は 68.7% で、カークランドらが 2005 年に報告した Ames と他の in vitro 試験 (MLA, in vitro MN, in vitro CA) との組合せによる感受性の 75.3% ~ 81.0% に比べると低かった。一方、非発がん物質について Ames と in vivo MN の両試験を実施した場合の特異性 (両方の試験で陰性) は 45.3% で、Ames と他の in vitro 試験との組合せによる特異性の 12.0% ~ 34.6% に比べると高かった。Ames と in vivo TGR を組合せた場合の感受性を表 8 に示した。Ames + in vivo TGR の感受性は高く、83.8% であった。特異性は、非発がん物質のデータが極めて少ないため、算出しなかった。これらをもとに、Ames、in vitro CA、in vivo MN あるいは in vivo TGR のうち、Ames を含む 3

あるいは4試験の組合せによる感受性を算出した(表9)。3試験の組合せによる感受性は、Ames + in vitro CA + in vivo MNで80.8%、Ames + in vitro CA + in vivo TGRで89.1%、Ames + in vivo MN + in vivo TGRで87.5%であった。また4試験すべての組合せ(Ames + in vitro CA + in vivo MN + in vivo TGR)では89.3%であった。3あるいは4試験の組合せによる特異性は、Ames + in vitro CA + in vivo MNでのみ算出されたが、21.3%と低いものであった(表10)。

C.3. In vitro – in vivo 試験間の比較

CGX DBではin vitro MNのデータが収載されているが、発がん物質に対する試験データ数は89件であり、in vitro CAの352件に比べ圧倒的に少ない。そこで、in vivo MNに対する染色体異常を指標とするin vitro試験との比較においてはin vitro CAを選択した。In vivo MNとin vitro CAの一致性を表11に示した。両試験の一致性は50.3%(151/300)であった。多くの物質(70の発がん物質と21の非発がん物質)がin vitro CAで陽性、in vivo MNで陰性を示す一方、27物質(17の発がん物質および10の非発がん物質、表12)がin vitro CAで陰性、in vivo MNで陽性を示した。また、CGX DBでは遺伝子突然変異を指標とするin vitro試験としてAmes試験とMLAのデータが収載されている。MLAは遺伝子突然変異に加え染色体異常誘発性をも検出可能な試験系とされていることから、Ames試験をin vivo TGRの対照in vitro試験として選択した。In vivo TGRとAmesの一致性を表13に示した。評価対象物質数はin vivo MNと比べ少ないものの、高い一致性(79.5%、62/78)を示した。Amesにおける不明確(E)の1物質を除く15物質が不一致となり、そのうち、5つの発がん物質

がAmesで陰性だがTGRで陽性、8つの発がん物質がAmesで陽性だがTGRで陰性、2つの非発がん物質がAmesで陽性だがTGRで陰性を示した(表14)。

D. 考察

CGX DBの化学物質セットについて、in vivo MNとin vivo TGRのデータを収集・解析した結果を表15および図1に要約した。In vivo MNの感受性は41.0%、特異性は60.5%、in vivo TGRの感受性は72.9%であった(特異性は、非発がん物質に対するTGRのデータが極めて少なかったため、評価しなかった)。In vivo MNの感受性は、カーランドらによるin vitro試験の報告(Ames 58.8%、MLA 73.1%、MN 78.7%、CA 65.6%)と比較して低いものであったが、一方、特異性はAmesに次いで高いものであった(Ames 73.9%、MLA 39.0%、MN 30.8%、CA 44.9%)。また、Amesとin vivo MNを組合せた場合の感受性は68.7%、特異性は45.3%を示し、一般的なin vitro試験の組合せであるAmes + in vitro CAの感受性74.3%、特異性37.5%と同程度であった。ICHにおける医薬品の遺伝毒性試験の組合せにおけるオプション2(Ames試験および2種のin vivo試験、1種は通常in vivo MN)において検討される可能性のあるAmes + in vivo MN + in vivo TGRは高い感受性(87.5%)を示し、ICHのオプション1であるAmes + in vitro CA + in vivo MNの感受性(80.8%)よりも若干高かった。オプション1でin vitro陽性の場合に想定される4試験の組合せであるAmes + in vitro CA + in vivo MN + in vivo TGRの感受性も同様に高かった(89.3%)。これらの知見は、2つめのin vivo試験を適切に選択すれば、オプション2は、オプション1と同様、発がん物質の検出に有効に働くことを示唆している。In vivo TGRの感受性

(72.9%)はAmes(58.8%)よりも高く、偽陽性が多いとされるin vitro哺乳類細胞試験(65.6%~78.7%)と同程度であった。TGRをより適切に利用するためには、発がん性との比較において、発がん標的臓器と遺伝子突然変異標的臓器の相違の要因、例えば、動物種、系統、投与期間、投与経路、ならびにそれらに関連する化学物質の吸収や代謝について検討することが必要と考えられる。

In vivo – in vitro 試験間の比較では、Amesとin vivo TGRの一致性は79.5%、in vitro CAとin vivo MNの一致性は50.3%であった。In vivo MNは、ジアルキルニトロソ化合物、金属化合物、芳香族アミン類、ハロゲン化合物に対する感受性が低いことが示されているが、in vitro陰性だがin vivo陽性となる物質(体温変化などの遺伝毒性メカニズムによらないin vivo陽性を除く)の特徴やそのメカニズムの検証が必要である。In vivo – in vitro 試験間のそれぞれの比較において、不一致を示した化学物質の特性等の解明が、より精度の高いQSARの開発につながるものと考えられる。

E. 結論

CGX DBを利用し、これまでにない大規模なin vivo遺伝毒性試験(in vivo MNおよびin vivo TGR)のデータベース(拡張CGX DB)を構築した。構築したデータベースをもとに感受性および特異性を評価した結果、in vivo MNの感受性は41.0%、特異性は60.5%、in vivo TGRの感受性は72.4%であった。試験を組合せた場合の感受性/特異性は、Ames + in vivo MNで68.7%/45.3%で、Ames + in vitro CAの74.3%/37.5%と同程度であり、また、Ames + in vivo TGRでは83.8%/ncと、高い感受性を示した。また、in vivo MNとin vitro

CAの一致性は50.3%、in vivo TGRとAmesの一致性は79.5%であった。これらのin vivo知見あるいはin vitro/in vivo試験間の相違に関する知見を(定量的)構造活性相関(QSAR)に紐込むことが精度向上に必要と考えられた。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

論文発表

T. Morita, Y. Uno, M. Honma, H. Kojima, M. Hayashi, R.R. Tice, R. Corvi, L. Schechtman, The JaCVAM International Validation Study on the in vivo Comet Assay: Selection of Test Chemicals, Mutation Research 786–788 (2015) 14–44.

Y. Uno, H. Kojima, T. Omori, R. Corvi, M. Honma, L.M. Schechtman, R.R. Tice, B. Burlinson, P. Escobar, A.R. Kraynak, Y. Nakagawa, M. Nakajim, K. Pant, N. Asano, D. Lovell, T. Morita, Y. Ohno, M. Hayashi, JaCVAM-organized international validation study of the in vivo rodent alkaline comet assay for the detection of genotoxic carcinogens: I. Summary of pre-validation study results, Mutation Research 786–788 (2015) 3–13.

Y. Uno, H. Kojima, T. Omori, R. Corvi, M. Honma, L.M. Schechtman, R.R. Tice, C. Beevers, M. De Boeck, B. Burlinson, C.A. Hobbs, S. Kitamoto, A.R. Kraynak, J. McNamee, Y. Nakagawa, K. Pant, U. Plappert-Helbig, C. Priestley, H. Takasawa, K. Wada, U. Wirnitzer, N. Asano, P. Escobar, D. Lovell, T. Morita, M.

Nakajim, Y. Ohno, M. Hayashi, JaCVAM-organized international validation study of the in vivo rodent alkaline comet assay for detection of genotoxic carcinogens: II. Summary of definitive validation study results, Mutation Research 786–788 (2015) 45–76.

S. Hamada, W. Ohyama, R. Takashima, K. Shimada, K. Matsumoto, S. Kawakami, F. Uno, H. Sui, Y. Shimada, T. Imamura, S. Matsumura, H. Sanada, K. Inoue, S. Muto, I. Ogawa, A. Hayashi, T. Takayanagi, Y. Ogiwara, A. Maeda, E. Okada, Y. Terashima, H. Takasawa, K. Narumi, Y. Wako, K. Kawasako, M. Sano, N. O., T. Morita, H. Kojima, M. Honma, M. Hayashi, Evaluation of the repeated-dose liver and gastrointestinal tract micronucleus assays with 22 chemicals using young adult rats: Summary of the collaborative study by the Collaborative Study Group for the Micronucleus Test (CSGMT)/The Japanese Environmental Mutagen Society (JEMS) – Mammalian Mutagenicity Study Group (MMS), Mutation Research 780-781 (2015) 2–17.

森田 健 , LD50 値による毒性評価手法の変遷 , 中毒研究 , 28, 388-391, 2015.

J.T. MacGregor, R. Frötschl, P.A. White, K.S. Crump, D.A. Eastmond, S. Fukushima, M. Guérard, M. Hayashi, L. Soeteman-Hernandez, T. Kasamatsu, D. Levy, T. Morita, L. Müller, R. Schoeny, M.J. Schuler, V. Thybaud, G.E. Johnson, IWGT Report on Quantitative

Approaches to Genotoxicity Risk Assessment I. Methods and metrics for defining exposure-response relationships and points of departure (PoDs), Mutation Research 783 (2015) 55–65.

J.T. MacGregor, R. Frötschl, P.A. White, K.S. Crump, D.A. Eastmond, S. Fukushima, M. Guérard, M. Hayashi, L. Soeteman-Hernandez, G.E. Johnson, T. Kasamatsu, D.D. Levy, T. Morita, L. Müller, R. Schoeny, M.J. Schuler, V. Thybaud, IWGT report on quantitative approaches to genotoxicity risk assessment II. Use of point-of-departure (PoD) metrics in defining acceptable exposure limits and assessing human risk, Mutation Research 783 (2015) 66–78.

Y. Uno, T. Morita, M. Luijten, C. Beevers, S. Hamada, S. Itoh, W. Ohyama, H. Takasawa, Recommended protocols for the liver micronucleus test: report of the IWGT working group, Mutation Research 783 (2015) 13–18.

Y. Uno, T. Morita, M. Luijten, C. Beevers, S. Hamada, S. Itoh, W. Ohyama, H. Takasawa, Micronucleus test in rodent tissues other than liver or erythrocytes: report of the IWGT working group, Mutation Research 783 (2015) 19–22.

○S. Canipa, A. Cayley, W.C. Drewe, R.V. Williams, S. Hamada, A. Hirose, M. Honma, T. Morita, Using in vitro structural alerts for chromosome damage to predict in vivo activity and direct future testing, Mutagenesis, 31, 17-25,

2016.

○T. Morita, S. Hamada, K. Masumura, A. Wakata, J. Maniwa, H. Takasawa, K. Yasunaga, T. Hashizume, M. Honma, Evaluation of the sensitivity and specificity of in vivo erythrocyte micronucleus and transgenic rodent gene mutation tests to detect rodent carcinogens, Mutation Research, 802 (2016) 1-29.

学会発表

T. Morita, GHS classification of CMR substances in EU and Japan, AsiaTox 2015、済州島、韓国、2015年6月23-26日。

森田 健、CMR物質のGHS分類比較：EUと日本、第42回日本毒性学会、金沢、2015年6月29日-7月1日。

森田 健、LD50値による毒性評価と行政利用、第37回日本中毒学会合同シンポジウム、和歌山、2015年7月17-18日。

○T. Morita, S. Hamada, K. Masumura, M. Honma, Detection of rodent carcinogens and non-carcinogens by in vivo erythrocyte micronucleus and transgenic rodent mutation tests, EEMS 2015, 23-27 August 2015, Prague, Czech Republic.

S. Hamada, T. Morita, K. Narumi, Y. Wako, K. Kawasaki, W. Ohyama, M. Honma, M. Hayashi, Detection of hepatocarcinogens by combination of liver micronucleus assay and

histopathological examination in 2-week or 4-week repeated dose studies, 46th Annual EMGS (Environmental Mutagenesis and Genomics Society) meeting, September 26-30, 2015, New Orleans, Louisiana.

Horibata K, Yamada M, Ukai A, Kimoto T, Chikura S, Miura D, Itoh S, Muto S, Uno Y, Sanada H, Takashima R, Shigano M, Takasawa H, Hamada S, Yamamoto M, Hori H, Tsutsumi E, Wada K, Maeda A, Kikuzuki R, Ogiwara Y, Kyoya T, Adachi H, Uematsu Y, Yoshida I, Narumi K, Fujiishi Y, Fukuda T, Suzuki Y, Goto K, Morita T, Honma M, Interlaboratory Trial of the PIGRET Assay As a Short-term Genotoxicity Test: Collaborative Study by Mammalian Mutagenicity Study (MMS) Group of Japanese Environmental Mutagen Society (JEMS). 46th Annual EMGS (Environmental Mutagenesis and Genomics Society) meeting, September 26-30, 2015, New Orleans, Louisiana.

Hamada S, Morita T, Narumi K, Wako Y, Kawasaki K, Ohyama W, Honma M, Hayashi M, Detection of hepatocarcinogens by combination of liver micronucleus assay and histopathological examination in 2-week or 4-week repeated dose studies, 46th Annual EMGS (Environmental Mutagenesis and Genomics Society) meeting, September 26-30, 2015, New Orleans, Louisiana.

濱田修一, 森田健, 成見香瑞範, 涌生ゆみ, 川迫一史, 大山ワカ子, 本間正充, 林真, 4週間の反復投与毒性試験結果(肝臓小核試験および病理組織学的検査)から肝発がん性を予測する、関西実験動物研究会第128回研究会、平成27年12月4日(金) 京都大学楽友会館。

○増村健一、森田健、本間正充、トランスジェニック動物遺伝子突然変異試験におけるin vivo変異原性と発がん性の相関に関する研究、第74回日本癌学会学術総会、2015年10月8日~10日、名古屋国際会議場。

○森田健、濱田修一、増村健一、本間正充、In vivo赤血球小核試験とトランスジェニック齧歯類突然変異試験による齧歯類発がん物質の検出、日本環境変異原学会第44回大会、2015年11月27~28日、九州大学。

森田健、畝山智香子、カラメル色素中の4-メチルイミダゾールのリスク評価、日本環境変異原学会第44回大会、2015年1月27~28日、九州大学。

堀端克良, 山田雅巳, 鶴飼明子, 木本崇文, 千藏さつき, 三浦大志郎, 伊東悟, 武藤重治, 宇野芳文, 真田尚和, 高島理恵, 志賀野美幸, 高沢博修, 濱田修一, 山本美佳, 堀妃佐子, 堤絵梨, 和田邦生, 前田晃央, 菊月隆太, 荻原庸介, 京谷恭弘, 足立秀樹, 上松泰明, 吉田唯真, 成見香瑞範, 藤石洋平, 福田隆之, 鈴木裕太, 後藤玄, 森田健, 本間正充、PIGRETアッセイの短期試験としての有用性: MMS共同研究報告、日本環境変異原学会第44回大会、2015年11月27~28日、九州大学。

本田大士、藤田侑里香、松村奨士、川本泰輔、伊藤勇一、森田健、西山直宏、染

色体異常試験の陽性物質リストから有用な偽陽性原料を救え II、数学的手法を用いた大規模遡及評価、日本環境変異原学会第44回大会、2015年11月27~28日、九州大学。

公刊図書・書籍

なし

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表1 In vivo 小核試験データの収集に用いた主な資料

<p>レビュー論文</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Mavournin et al (1990) The in vivo micronucleus assay in mammalian bone marrow and peripheral blood. A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. Mutat Res. 239, 29-80. ➤ Kirkland et al (2008) Recommended lists of genotoxic and non-genotoxic chemicals for assessment of the performance of new or improved genotoxicity tests: a follow-up to an ECVAM workshop. Mutat Res. 653, 99-108. ➤ Kirkland et al (2008) Evaluation of the ability of a battery of three in vitro genotoxicity tests to discriminate rodent carcinogens and non-carcinogens III. Appropriate follow-up testing in vivo. Mutat Res. 654, 114-132. ➤ Kirkland et al (2011) A core in vitro genotoxicity battery comprising the Ames test plus the in vitro micronucleus test is sufficient to detect rodent carcinogens and in vivo genotoxins. Mutat Res. 721, 27-73. <p>大規模試験報告書</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Shelby et al (1993) Evaluation of a three-exposure mouse bone marrow micronucleus protocol: results with 49 chemicals. Environ Mol Mutagen, 21, 160-179. ➤ Morita et al (1997) Evaluation of the rodent micronucleus assay in the screening of IARC carcinogens (Groups 1, 2A and 2B). The summary report of the sixth collaborative study by CSGMT/JEMS-MMS. Mutat Res. 389, 3-122. ➤ Wakata et al (1998) Evaluation of the rat micronucleus test with bone marrow and peripheral blood: summary of the 9th collaborative study by CSGMT/JEMS. Environ Mol Mutagen. 32, 84-100. ➤ Witt et al (2000) Micronucleated Erythrocyte Frequency in Peripheral Blood of B6C3F1 Mice from Short-Term, Prechronic, and Chronic Studies of the NTP Carcinogenesis Bioassay Program. Environ. Mol. Mutagen. 36, 163-194. ➤ Hamada et al (2001) Evaluation of the rodent micronucleus assay by a 28-day treatment protocol: Summary of the 13th collaborative study group for the micronucleus test (CSGMT)/Environmental Mutagen Society of Japan (JEMS)-Mammalian Mutagenicity Study Group (MMS). Environ Mol Mutagen 37, 93-110. <p>国際的化学品評価文書</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ EU RAR: EU RAR Search, http://esis.jrc.ec.europa.eu/index.php?PGM=ora ➤ SIDS: SIDS Search, http://www.chem.unep.ch/irptc/sids/OECD/SIDS/sidspub.html OR ↓ OECD Existing Chemicals Database Search, http://webnet.oecd.org/hpv/UI/Search.aspx ➤ EHC, CICAD, IARC: IPCS INCHEM Search, http://www.inchem.org/ <p>NTP データサーチ</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ NTP Database Search Home Page, http://tools.niehs.nih.gov/ntp_tox/ <p>PubMed 文献サーチ</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ PubMed: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/ (検索語: CAS 番号あるいは化学物質名、micronucle*, rodent)
--

表 2 In vivo MN および in vivo TGR の感受性および特異性

Carcinogenicity	<i>in vivo</i> MN				TGR			
	+	E	-	Total	+	E	-	Total
+	120	11	162	293	55	0	21	76
-	24	10	52	86	0	0	4	4
Total	144	21	214	379	55	0	25	80
Sensitivity ^a	41.0% (120/293)				72.4% (55/76)			
Specificity ^a	60.5% (52/86)				Not calculated due to small numbers of non-carcinogens			
Concordance ^a	45.4% (172/379)				Not calculated			

+, Positive; -, Negative; E, Equivocal

a: Equivocal (E) results were not counted either as positive or negative, but they were included in the total number.

If E results are considered positive, the performance is as follows:

in vivo MN: sensitivity, 44.7% (131/293); specificity, 60.5% (52/86), concordance, 48.3% (183/379)

If E results are considered negative, the performance is as follows:

in vivo MN: sensitivity, 41.0% (120/293); specificity, 72.1% (62/86), concordance, 48.0% (182/379)

表 3 Ames および in vitro CA の感受性および特異性

Carcinogenicity	Ames				<i>in vitro</i> CA			
	+	E	-	Total	+	E	-	Total
+	321	8	215	544	225	15	118	358
-	40	6	130	176	56	14	66	136
Total	361	14	345	720	281	29	184	494
Sensitivity ^a	59.0% (321/544)				62.8% (225/358)			
Specificity ^a	73.9% (130/176)				48.5% (66/136)			
Concordance ^a	62.6% (451/720)				58.9% (291/494)			

+, Positive; -, Negative; E, Equivocal

a: Equivocal (E) results were not counted either as positive or negative, but they were included in the total number.

If E results are considered positive, the performance is as follows:

Ames: sensitivity, 60.5% (329/544); specificity, 73.9% (130/176), concordance, 63.8% (459/720)

in vitro CA: sensitivity, 67.0% (240/358); specificity, 48.5% (66/136), concordance, 61.9% (306/494)

If E results are considered negative, the performance is as follows:

Ames: sensitivity, 59.0% (321/544); specificity, 77.3% (136/176), concordance, 63.5% (457/720)

in vitro CA: sensitivity, 62.8% (225/358); specificity, 58.8% (80/136), concordance, 61.7% (305/494)

表 4 Ames と in vitro CA の組合せにおける感受性

Ames	<i>in vitro</i> CA			Total
	+	E	-	
+	149	8	35	192
E	5	0	2	7
-	63	7	81	151
Total	217	15	118	350

No. of carcinogens tested in both tests (A): 350

No. (%) of clear positive results in both tests (B): 149 (42.6%)

No. (%) of clear positive results in only 1 of the two tests (C): 111 (31.7%)

Sensitivity (i.e., clearly positive in at least 1 test when both conducted ($(B+C)/A$)^a: 74.3%

+, Positive; -, Negative; E, Equivocal

a: If E results are considered positive, the sensitivity is 76.9% (269/350).

表 5 Ames と in vitro CA の組合せにおける特異性

Ames	<i>in vitro</i> CA			Total
	+	E	-	
+	19	2	15	34
E	3	0	2	5
-	34	12	51	97
Total	56	14	66	136

No. of non-carcinogens tested in both tests (A): 136

No. of clear negative results in both tests (B): 51

Specificity (B/A)^a: 37.5%

+, Positive; -, Negative; E, Equivocal

a: If E results are considered negative, the specificity is 47.8% (65/136).

表 6 Ames と in vivo MN の組合せにおける感受性

Ames	<i>in vivo</i> MN			Total
	+	E	-	
+	79	7	73	159
E	2	0	2	4
-	34	4	83	121
Total	115	11	158	284

No. of carcinogens tested in both tests (A): 284

No. (%) of clear positive results in both tests (B): 79 (27.8%)

No. (%) of clear positive results in only 1 of the two tests (C): 116 (40.8%)

Sensitivity (i.e., clearly positive in at least 1 test when both conducted ($(B+C)/A$)^a): 68.7%

+, Positive; -, Negative; E, Equivocal

a: If E results are considered positive, the sensitivity is 70.8% (201/284).

表 7 Ames と in vivo MN の組合せにおける特異性

Ames	<i>in vivo</i> MN			Total
	+	E	-	
+	6	2	11	19
E	2	0	2	4
-	16	8	39	63
Total	24	10	52	86

No. of non-carcinogens tested in both tests (A): 86

No. of clear negative results in both tests (B): 39

Specificity (B/A)^a: 45.3%

+, Positive; -, Negative; E, Equivocal

a: If E results are considered negative, the specificity is 60.0% (49/86).

表 8 Ames と in vivo TGR の組合せにおける感受性

Ames	TGR			Total
	+	E	-	
+	48	0	8	56
E	1	0	0	1
-	5	0	12	17
Total	54	0	20	74

No. of carcinogens tested in both tests (A): 74

No. (%) of clear positive results in both tests (B): 48 (64.9%)

No. (%) of clear positive results in only 1 of the two tests (C): 14 (18.9%)

Sensitivity (i.e., clearly positive in at least 1 test when both conducted ($[B+C]/A$)^a): 83.8%

+, Positive; -, Negative; E, Equivocal

a: If E results are considered positive, the sensitivity is 83.8% (62/74).

表 9 3 試験あるいは 4 試験の組合せにおける感受性

	Test combination			
	Ames + <i>in vitro</i> CA+ <i>in vivo</i> MN	Ames + <i>in vitro</i> CA + TGR	Ames + <i>in vivo</i> MN + TGR	Ames + <i>in vitro</i> CA+ <i>in vivo</i> MN + TGR
No. of carcinogens tested in all three or four test systems	224	64	64	56
No. (%) of clear positive results in all three or four test systems	51/224 (22.8%)	36/64 (56.3%)	31/64 (48.4%)	25/56 (44.6%)
No. (%) of clear positive results in one or two of the three assays	130/224 (58.0%)	21/64 (32.8%)	25/64 (39.1%)	Not applicable
No. (%) of clear positive results in one, two or three of the four assays	Not applicable	Not applicable	Not applicable	25/56 (44.6%)
Sensitivity (i.e., clearly positive in at least one assay when all three or four conducted) ^a	181/224 (80.8%)	57/64 (89.1%)	56/64 (87.5%)	50/56 (89.3%)

a: If equivocal results are considered positive, the sensitivity of the combination of

Ames + *in vitro* CA + *in vivo* MN is 83.0% (186/224). The sensitivities of other test combinations are not changed.

表 10 3 試験あるいは 4 試験の組合せにおける特異性

	Test combination			
	Ames + <i>in vitro</i> CA+ <i>in vivo</i> MN	Ames + <i>in vitro</i> CA + TGR	Ames + <i>in vivo</i> MN + TGR	Ames + <i>in vitro</i> CA+ <i>in vivo</i> MN + TGR
No. of non-carcinogens tested in all three or four test systems (A)	75	4	3	3
No. (%) of clear negative results in all three or four test systems (B)	16	0	1	0
Specificity (B/A) ^a	16/75 (21.3%)	Not calculated	Not calculated	Not calculated

a: If equivocal results are considered negative, the specificity is 29.3% (22/75).

表 11 In vitro CA と in vivo MN の一貫性

<i>in vitro</i> CA	<i>in vivo</i> MN			Total
	+ (C, NC)	E (C, NC)	- (C, NC)	
+	82 (72, 10)	12 (6, 6)	91 (70, 21)	185
E	3 (1, 2)	0 (0, 0)	12 (7, 5)	15
-	27 (17, 10)	4 (3, 1)	69 (49, 20)	100
Total	112 (90, 22)	16 (9, 7)	172 (126, 46)	300
Concordance ^a	50.3% (151/300)			

+, Positive; -, Negative; E, Equivocal; C, Carcinogens; NC, Non-carcinogens

a: Equivocal (E) results not counted either as positive or negative, but they were included in the total number.

If E results are considered positive, the concordance is 55.3% (166/300).

If E results are considered negative, the concordance is 55.7% (167/300).

表 12 In vitro CA (陰性) と in vivo MN (陽性) 間で結果が不一致となった物質

ID	Chemical	Chemical Grouping	CAS	Carcino-genicity	<i>in vitro</i> CA	<i>in vivo</i> MN
C179	Chlorpromazine hydrochloride	Aromatic amine or amide	69-09-0	+	-	+a
C185	C.I. Direct black 38	Aromatic azo compound	1937-37-7	+	-	+
C198	C.I. Solvent yellow 14	Aromatic azo compound	842-07-9	+	-	+
C217	D&C Red 9	Aromatic azo compound	5160-02-1	+	-	+
C226	Decabromodiphenyl oxide	Polyhalogenated aromatic	1163-19-5	+	-	+
C240	Diazepam	Aromatic amine or amide	439-14-5	+	-	+
C277	3,4-Dihydrocoumarin	Glycidyl ether, amine, ester or amide	119-84-6	+	-	+
C305	Dimethylvinyl chloride	Halogenated alkene	513-37-1	+	-	+
C425	Isoprene	Alkene	78-79-5	+	-	+
C645	Procarbazine HCl	Mono- or di-alkylhydrazine	366-70-1	+	-	+
C660	Reserpine	Phenol or precursor	50-55-5	+	-	+b
C691	1,1,2,2-Tetrachloroethane	Gem-dihalide	79-34-5	+	-	+
C705	Titanium dioxide	Alkali, alkali earth, metal salt	13463-67-7	+	-	+
C706	Toluene	Benzene	108-88-3	+	-	+
C734	Trimethylphosphate	Alkyl ester of phosphoric or phosphonic acid	512-56-1	+	-*	+
C738	Tris(2-chloroethyl)phosphate	Alkylating agent	115-96-8	+	-	+
C744	Urethane	Alkyl carbamate	51-79-6	+	-*	+
NC8	dl-Amphetamine sulfate	Amine	60-13-9	-	-	+
NC13	l-Ascorbic acid	Carboxylic acid	50-81-7	-	-	+
NC49	Deltamethrin	Halogenated alkene	52918-63-5	-	-	+
NC59	1,1-Dichloroethane	Gem-dihalide	75-34-3	-	-	+
NC119	Methyl parathion	Alkyl ester of phosphoric or phosphonic acid	298-00-0	-	-	+
NC120	Monochloroacetic acid	Alkylating agent	79-11-8	-	-	+
NC133	Oxytetracycline HCl	Substituted vinyl ketone	2058-46-0	-	-	+
NC152	Resorcinol	Resorcinol or precursor	108-46-3	-	-*	+
NC173	Tolbutamide	Aryl sulphonamide	64-77-7	-	-	+
NC178	Triphenyltin hydroxide	Alkali, alkali earth, metal salt	76-87-9	-	-	+

*: positive response at both >10 mM and 2 mg/mL.

a: due to hypothermia

b: mice, due to hypothermia; negative in rat

表 13 Ames と in vivo TGR の一致性

Ames	TGR			Total
	+ (C, NC)	E (C, NC)	- (C, NC)	
+	48 (48, 0)	0 (0, 0)	10 (8, 2)	58
E	1 (1, 0)	0 (0, 0)	0 (0, 0)	1
-	5 (5, 0)	0 (0, 0)	14 (12, 2)	19
Total	54 (54, 0)	0 (0, 0)	24 (12, 2)	78
Concordance ^a	79.5% (62/78)			

+, Positive; -, Negative; E, Equivocal; C, Carcinogens; NC, Non-carcinogens

a: Equivocal (E) results were not counted either as positive or negative, but they were included in the total number.

If E results are considered positive, the concordance is 80.8% (63/78).

If E results are considered negative, the concordance is 79.5% (62/78).

表 14 Ames と in vivo TGR 間で結果が不一致となった物質

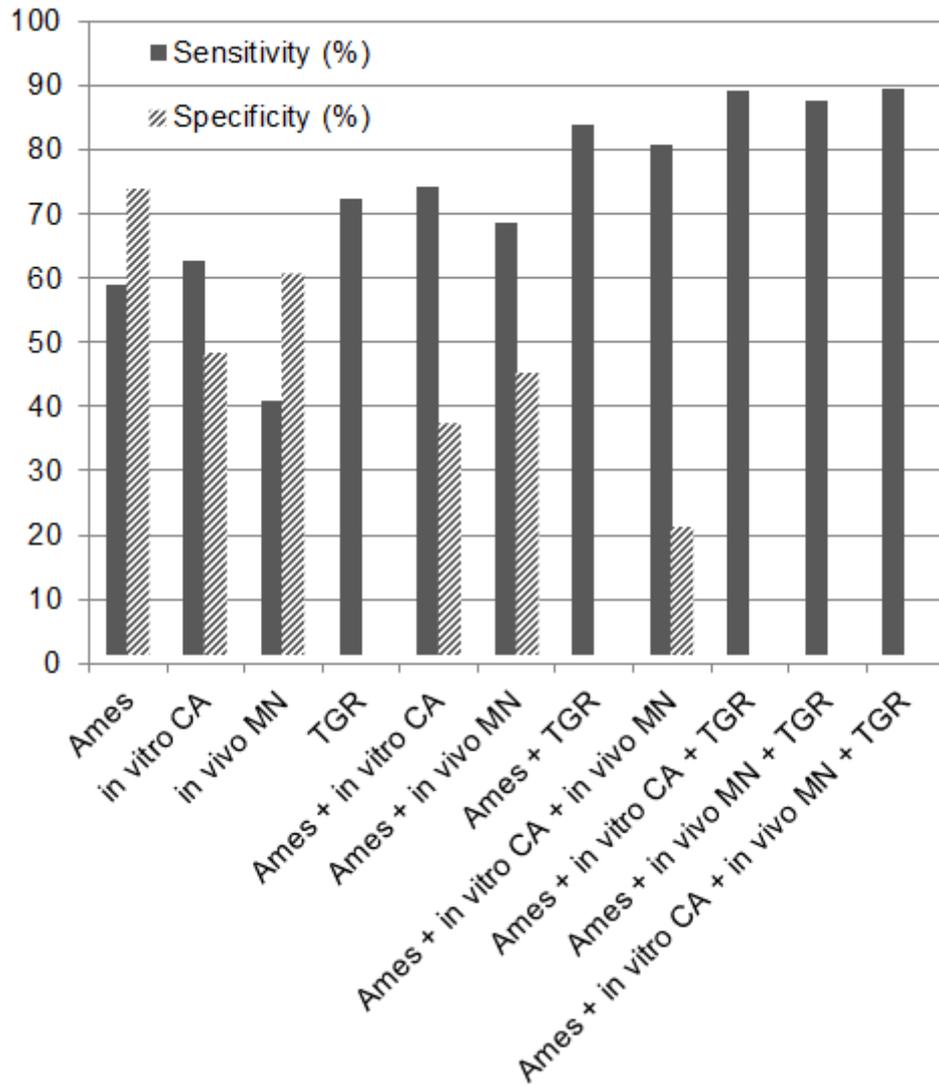
ID	Chemical	Chemical Grouping	CAS	Carcinogenicity	Ames	TGR
C84	Benzene	Benzene	71-43-2	+	-	+
C384	Hexachlorobutadiene	Halogenated alkene	608-73-1	+	-	+
C605	Oxazepam	Aromatic amine or amide	604-75-1	+	-	+
C645	Procarbazine HCl	Mono- or di-alkylhydrazine	366-70-1	+	-	+
C742	Uracil	Substituted pyrimidine or purine	66-22-8	+	-	+
C17	Acrylonitrile	Alpha-, beta-unsaturated nitrile	107-13-1	+	+	-
C137	Carbon tetrachloride	Halogenated methane	56-23-5	+	+	-
C160	Chloroform	Halogenated methane	67-66-3	+	+	-
C257	1,2-Dichloroethane	vic-Dihalide	107-06-2	+	+	-
C395	Hydrazine sulphate	Hydrazine or monoacyl- or monosulphonyl-hydrazine	10034-93-2	+	+	-
C489	Metronidazole	Aromatic nitro compound	443-48-1	+	+	-
C509	Nitrite, sodium	Alkyl nitrite, nitrous acid or nitrite salt	7632-00-0	+	+	-
C622	Phenobarbital	(Thio)urea	50-06-6	+	+	-
NC52	2,6-Diaminotoluene 2HCl	Aromatic amine or amide	15481-70-6	-	+	-
NC126	1-Nitronaphthalene	Aromatic nitro compound	86-59-7	-	+	-

表 15 各試験単独およびそれらの組合せによる感受性および特異性の要約表

Measure	Ames	<i>in vitro</i> CA	<i>in vivo</i> MN	TGR	Ames + <i>in vitro</i> CA	Ames + <i>in vivo</i> MN	Ames + TGR	Ames + <i>in vitro</i> CA + <i>in vivo</i> MN	Ames + <i>in vitro</i> CA + TGR	Ames + <i>in vivo</i> MN + TGR	Ames + <i>in vitro</i> CA + <i>in vivo</i> MN + TGR
Sensitivity (%)	59.0	62.8	41.0	72.4	74.3	68.7	83.8	80.8	89.1	87.5	89.3
Specificity (%)	73.9	48.5	60.5	NC	37.5	45.3	NC	21.3	NC	NC	NC
Concordance (%)	62.6	58.9	45.4	NC	NA	NA	NC	NA	NA	NA	NA

NC: Not calculated
NA: Not applicable

図1 各試験単独およびそれらの組合せによる感受性および特異性の要約図



Appendix 1: Genotoxicity test results with rodent carcinogens								
ID	Chemical	CAS No.	Ames	<i>in vitro</i> CA	<i>in vivo</i> MN	<i>in vivo</i> MN Ref.	TGR	TGR Ref.
C1	Acetaldehyde	75-07-0	-	+	+	[11]		
C2	Acetaldehyde methylformylhydrazone	16568-02-8	-					
C3	Acetamide	60-35-5	-		-	[11]-		
C4	Acetaminophen	103-90-2	-	+	-	[64]	-	[16]-
C5	Acetone[4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl]hydrazone	18523-69-8						
C6	Acetoxime	127-06-0	-					
C7	N-Acetoxy-2-acetylaminofluorene	6098-44-8	+	+				
C8	1'-Acetoxysafrrole	34627-78-6	+					
C9	4-Acetylaminohiphenyl	4075-79-0						
C10	2-Acetylaminofluorene	53-96-3	+	+	+	[30]	+	[16]
C11	N'-Acetyl-4-(hydroxymethyl)phenylhydrazine	65734-38-5						
C12	1-Acetyl-2-isonicotinoylhydrazine	1078-38-2						
C13	1-Acetyl-2-phenylhydrazine	114-83-0	+					
C14	Acifluorfen	50594-66-6						
C15	Acronycine	7008-42-6						
C16	Acrylamide	79-06-1	E	+	+	[65, 66]	+	[16, 67]
C17	Acrylonitrile	107-13-1	+	+	-a	[11, 41]	-^	[16]-
C18	Actinomycin D	50-76-0	-	+	+	[50]		
C19	Aflatoxicol	29611-03-8	+					
C20	Aflatoxin B1	1162-65-8	+	+	+	[30]	+	[16]
C21	Aflatoxin, crude	-						
C22	Aldrin	309-00-2	-	+	-	[68]		
C23	Allyl glycidyl ether	106-92-3	+	+	+	[69]		
C24	Allyl isothiocyanate	57-06-7	E	+	-	[34]		
C25	Allyl isovalerate	2835-39-4	-	+				
C26	1-Allyl-1-nitrosourea	760-56-5						
C27	Allylhydrazine HCl	52207-83-7						
C28	2-Aminoanthracene	613-13-8	+	E				
C29	2-Aminoanthraquinone	117-79-3	+					
C30	4-Aminoazobenzene	60-09-3	+		+	[11]		
C31	4-Aminobiphenyl	92-67-1	+	+	+	[11]	+	[16]
C32	4-Aminobiphenyl HCl	2113-61-3	+		+	[70]		
C33	1-Amino-2,4-dibromoanthraquinone	81-49-2	+	-				
C34	2-Amino-3,4-dimethylimidazo[4,5-f]quinoline (MeIQ)	77094-11-2	+	+			+	[16]
C35	2-Amino-3,8-dimethylimidazo[4,5-f]quinoxaline (MeIQx)	77500-04-0	+		+	[71]	+	[16]
C36	3-Amino-1,4-dimethyl-5H-pyrido[4,3-b]indole acetate (Trp-P-1 acetate)	68808-54-8	+	+				
C37	2-Aminodiphenylene oxide	3693-22-9						
C38	2-Aminodipyrro[1,2-a:3',2'-d]imidazole (Glu-P-2)	67730-10-3	+	+				

ID	Chemical	CAS No.	Ames	<i>in vitro</i> CA	<i>in vivo</i> MN	<i>in vivo</i> MN Ref.	TGR	TGR Ref.
C39	3-Amino-4-ethoxyacetanilide	17026-61-2	+	-				
C40	3-Amino-9-ethylcarbazole HCl	6109-97-3	+	-				
C41	3-Amino-9-ethylcarbazole mixture	Mixture	+					
C42	2-Aminofluorene	153-78-6	+					
C43	2-Amino-6-methylpyrido[1,2-a:3',2'-d']imidazole (Glu-P-1)	67730-11-4	+	+				
C44	2-Amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline (IQ)	76180-96-6	+		-	[72]	+	[16]
C45	2-Amino-3-methylimidazo[4,5-f]quinoline HCl (IQ.HCl)	-	+				+	[16]
C46	2-Amino-1-methyl-6-phenylimidazo-[4,5-b]pyridine hydrochloride (PhIP.HCl)	105650-23-5	+	+	+	[73]	+	[16]
C47	3-Amino-1-methyl-5H-pyrido[4,3-b]indole acetate (Trp-P-2 acetate)	72254-68-1	+	+				
C48	2-Amino-5-(5-nitro-2-furyl)-1,3,4-oxadiazole	3775-55-1						
C49	2-Amino-5-(5-nitro-2-furyl)-1,3,4-thiadiazole	712-68-5						
C50	2-Amino-4-(5-nitro-2-furyl)thiazole	38514-71-5	+					
C51	trans-5-Amino-3[2-(5-nitro-2-furyl)vinyl]-1,2,4-oxadiazole	28754-68-9						
C52	2-Amino-4-nitrophenol	99-57-0	+	+	-	[50]		
C53	2-Amino-5-nitrophenol	121-88-0	+	+				
C54	4-Amino-2-nitrophenol	119-34-6	+	+				
C55	2-Amino-4-(p-nitrophenyl)thiazole	2104-09-8						
C56	2-Amino-5-nitrothiazole	121-66-4	+	+				
C57	2-Amino-9H-pyrido(2,3-b)indole (A-alpha-C)	26148-68-5	+	+			+	[16]
C58	3-Amino-1,2,4-triazole (Amitrole)	61-82-5	-	-	-	[74]~		
C59	11-Aminoundecanoic acid	2432-99-7	-	-	-	[34]		
C60	1-Amyl-1-nitrosourea	10589-74-9		+				
C61	Amylopectin sulphate	9047-13-6						
C62	Aniline HCl	142-04-1	-	+	+	[75]		
C63	o-Anisidine HCl	134-29-2	+		-	[50]		
C64	Aramite	140-57-8						
C65	Arecoline HCl	61-94-9			+	[30]		
C66	Aristolochic acid	313-67-7	+++	+++	-	[76]	+	[16]
C67	Aroclor 1254	27323-18-8	-					
C68	Aroclor 1260	11096-82-5						
C69	Asbestos	12001-29-5	-	+	-	[11]~		
C70	Atrazine	1912-24-9	-	+	+	[77]		
C71	Auramine O	2465-27-2	+	+				
C72	5-Azacytidine	320-67-2	+	+	+	[50]		
C73	Azaserine	115-02-6	+		+	[11]		
C74	Azathioprine	446-86-6	+	+	+	[30]	+	[16]
C75	Azobenzene	103-33-3	+	E	+	[26]		
C76	Azoxymethane	25843-45-2	+					
C77	1-Azoxypropane	17697-55-1						
C78	2-Azoxypropane	17697-53-9						

ID	Chemical	CAS No.	Ames	<i>in vitro</i> CA	<i>in vivo</i> MN	<i>in vivo</i> MN Ref.	TGR	TGR Ref.
C79	Barbital, sodium	144-02-5		+				
C80	Bemtridine	86133-11-3	-					
C81	Benomyl	17804-35-2	-		+	[78]		
C82	Benzaldehyde	100-52-7	-	+				
C83	Benz[a]anthracene	56-55-3	+		+	[11]		
C84	Benzene	71-43-2	-	+	+	[30]	+	[16]
C85	Benzidine	92-87-5	+	+	+	[30]		
C86	Benzidine 2HCl	531-85-1	+	+	+	[50]		
C87	Benzofuran	271-89-6	-	-				
C88	Benzo[a]pyrene	50-32-8	+	+	+	[30]	+	[16]
C89	1,4-Benzoquinone	106-51-4	-		+	[79]		
C90	Benzotrichloride	98-07-7	+					
C91	Benzoyl hydrazine	613-94-5						
C92	Benzyl acetate	140-11-4	-	-	-	[34]		
C93	Benzyl chloride	100-44-7	+	+	-	[30]~		
C94	o-Benzyl-p-chlorophenol	120-32-1	-	-				
C95	Benzylhydrazine 2HCl	20570-96-1						
C96	2-Biphenylamine HCl	2185-92-4	+	+	-	[34]		
C97	2,2-Bis(bromomethyl)-1,3-propanediol, technical grade	3296-90-0	+	+	E	[50]		
C98	Bis(2-chloro-1-methylethyl)ether, technical grade	108-60-1	+	+				
C99	Bis-2-chloroethylether	111-44-4	+					
C100	Bis-1,2-(chloromethoxy)ethane	13483-18-6						
C101	Bis-1,4-(chloromethoxy)-p-xylene	56894-91-8						
C102	Bis-(chloromethyl)ether	542-88-1						
C103	Bis(2,3-dibromopropyl)phosphate, magnesium salt	36711-31-6	+	+				
C104	Bis(dimethylamino)benzophenone (Michler's ketone)	90-94-8	+	E				
C105	4-Bis(2-hydroxyethyl)amino-2-(5-nitro-2-thienyl)quinazoline	33372-39-3	TC					
C106	Bis-2-hydroxyethylthiocarbamic acid, potassium	23746-34-1						
C107	Bromate, potassium	7758-01-2	+	+	+	[30]	+	[16]
C108	Bromocriptine mesylate	22260-51-1			-	[60]		
C109	Bromodichloromethane	75-27-4	-	+	-	[50, 61]		
C110	Bromoethane	74-96-4	+	-				
C111	2-Bromoethanol	540-51-2	+					
C112	7-Bromomethyl-12-methylbenz[a]anthracene	16238-56-5	+					
C113	Budesonide	51333-22-3						
C114	1,3-Butadiene	106-99-0	+		+	[30]	+	[16]
C115	tert-Butyl alcohol	75-65-0	-	-	-	[36, 50]		
C116	Butylated hydroxyanisole	25013-16-5	-	+	-	[50]		
C117	Butylated hydroxytoluene	128-37-0	-	-	-	[50]		
C118	Butylbenzyl phthalate	85-68-7	-	-	-	[50]		

ID	Chemical	CAS No.	Ames	<i>in vitro</i> CA	<i>in vivo</i> MN	<i>in vivo</i> MN Ref.	TGR	TGR Ref.
C119	N-n-Butyl-N-formylhydrazine	16120-70-0						
C120	N-Butylhydrazine HCl	56795-65-4						
C121	N-Butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine	3817-11-6	+					
C122	N-n-Butyl-N-nitrosourea	869-01-2	+	+				
C123	beta-Butyrolactone	3068-88-0	+		+	[11]		
C124	Cadmium chloride	10108-64-2	+	+	+	[82]		
C125	Cadmium sulphate	10124-36-4	-	+				
C126	Caffeic acid	331-39-5	-	+	-	[30]-		
C127	Calciferol	50-14-6		TC				
C128	Calcium chromate	13765-19-0	+	+	-	[83]		
C129	Calcium valproate	33433-82-8						
C130	Capsaicin	404-86-4	+	**	-	[22, 23]		
C131	Captafol	2425-06-1	+	+				
C132	Captan	133-06-2	+	+	+	[30]		
C133	Carbaryl hydrazine HCl	563-41-7	-		-	[84]		
C134	1-Carbaryl-2-phenylhydrazine	103-03-7						
C135	Carbaryl	63-25-2	+	+	+	[68]		
C136	Carbazole	86-74-8	-					
C137	Carbon tetrachloride	56-23-5	++	-	-	[11]	-	[16]-
C138	Carboxymethylnitrosourea	60391-92-6	-	+				
C139	Carrageenan, acid-degraded	9000-07-1						
C140	Catechol	120-80-9	-	+	+	[85]		
C141	Chloral hydrate	302-17-0	+	+	+	[50]		
C142	Chloramben	133-90-4	+	+				
C143	Chlorambucl	305-03-3	+	+	+	[11]	+	[16]
C144	Chlordane, technical grade	12789-03-6	+					
C145	Chlordane, analytical grade	57-74-9	-	-				
C146	Chlorendic acid	115-28-6	-	+				
C147	Chlorinated paraffins: C12	108171-26-2	-	+				
C148	Chlorinated paraffins: C23	63449-39-8	-					
C149	Chlomaphazine	494-03-1	+		+	[86]		
C150	Chloroacetaldehyde	107-20-0	+					
C151	4-Chloro-4'-aminodiphenylether	101-79-1						
C152	p-Chloroaniline HCl	20265-96-7	+		+	[50]		
C153	Chlorobenzene	108-90-7	-	+	-	[34]		
C154	Chlorobenzilate	510-15-6	-	-				
C155	Chlorodibromomethane	124-48-1	+	+	-	[50]		
C156	2-Chloro-5-(3,5-dimethylpiperidinophonyl)benzoic acid	37087-94-8						
C157	Chloroethane	75-00-3	+		-	[87]		
C158	1-Chloroethylnitroso-3-(2-hydroxypropyl)urea	-						

ID	Chemical	CAS No.	Amea	<i>in vitro</i> CA	<i>in vivo</i> MN	<i>in vivo</i> MN Ref.	TGR	TGR Ref.
C159	Chlorofluoromethane	593-70-4						
C160	Chloroform	67-66-3	+++	-	E	[88]	-	[16]~
C161	Chloromethyl methyl ether	107-30-2	-		E	[11]		
C162	3-Chloro-2-methylpropene, technical grade	563-47-3	-	+	-	[34]		
C163	3-(Chloromethyl)pyridine HCl	6959-48-4	+	+	-	[89]		
C164	1-Chloro-2-nitrobenzene	88-73-3	+	E				
C165	1-Chloro-4-nitrobenzene	100-00-5	+	+	+	[90]		
C166	3-(p-Chlorophenyl)-1,1-dimethylurea (AKA monuron)	150-68-5	-	+	+	[34]		
C167	4-Chloro-m-phenylenediamine	5131-60-2	+	+				
C168	4-Chloro-o-phenylenediamine	95-83-0	+	+	+	[11]	+	[16]
C169	1-(4-Chlorophenyl)-1-phenyl-2-propynyl carbamate	10473-70-8						
C170	2-Chloropropanal	683-50-1						
C171	1-Chloropropene	590-21-6						
C172	Chloroethalonil	1897-45-6	-	+	-	[91]		
C173	5-Chloro-o-toluidine	95-79-4	-	-				
C174	4-Chloro-o-toluidine HCl	3165-93-3	-	E				
C175	2-Chloro-1,1,1-trifluoroethane	75-88-7	-					
C176	[4-Chloro-6-(2,3-xyldino)-2-pyrimidinylthio]acetic acid (AKA Wyeth 14,643)	50892-23-4					+	[16]
C177	4-Chloro-6-(2,3-xyldino)-2-pyrimidinylthio (N-beta-hydroxyethyl)acetamide	65089-17-0						
C178	Chlorozotocin	54749-90-5	+					
C179	Chlorpromazine hydrochloride	69-09-0	-	-	+ b	[42]		
C180	Chrysazin	81-55-0	+	+				
C181	C.I. Acid orange 3	6373-74-6	+	+				
C182	C.I. Acid red 26 (AKA D&C Red 5 and Ponceau MX)	3761-53-3	E					
C183	C.I. Acid red 114	6459-94-5	+	-				
C184	C.I. Basic red 9 (pararosaniline HCl)	569-61-9	+	-	-	[50]		
C185	C.I. Direct black 38	1937-37-7	+	-	+	[92]		
C186	C.I. Direct blue 6	2602-46-2	+	-				
C187	C.I. Direct blue 14 (Trypan blue)	72-57-1	+		-	[11]~		
C188	C.I. Direct blue 15	2429-74-5	+	-				
C189	C.I. Direct blue 218	28407-37-6	-	-				
C190	C.I. Direct brown 95	16071-86-6	+	-				
C191	C.I. Disperse blue 1	2475-45-8	+	+	-	[50]		
C192	C.I. Disperse orange 2 (1-amino-2-methyl-anthraquinone)	82-28-0	+	+				
C193	C.I. Disperse yellow 3	2832-40-8	+	-	-	[34]		
C194	Cinnamyl anthranilate	87-29-6	-	-	-	[34]		
C195	C.I. Pigment red 3	2425-85-6	+	-				
C196	Ciprofibrate	52214-84-3		+				
C197	C.I. Solvent yellow 3 (o-Aminoazotoluene)	97-56-3	+		+ c	[11]	+	[16]
C198	C.I. Solvent yellow 14	842-07-9	+	-	+	[35]		

ID	Chemical	CAS No.	Ames	<i>In vitro</i> CA	<i>In vivo</i> MN	<i>In vivo</i> MN Ref.	TGR	TGR Ref.
C199	Citrinin	518-75-2	-					
C200	C.I. Vat yellow 4	128-66-5	-	-				
C201	Cilvorine	33979-15-6						
C202	Clofbrate	637-07-0	-	+	-	[45]	-	[16]~
C203	Clophen A 30	55600-34-5						
C204	Cobalt Sulfate heptahydrate	10026-24-1	+					
C205	Compound LY171883	88107-10-2						
C206	Coumarin	91-64-5	+	+	-	[50]		
C207	m-Cresidine	102-60-1	+	+				
C208	p-Cresidine	120-71-8	+	E	-	[11]~	+	[16]
C209	Crotonaldehyde	123-73-9	+					
C210	Cupferron	135-20-6	+	+				
C211	Cyclamate, sodium	139-05-9						
C212	Cylochlorotine	12663-46-6						
C213	Cyclopenta[c,d]joyrene	27208-37-3	+					
C214	Cylophosphamide monophydrate	6055-19-2	+	+	+	[37]	+	[16]
C215	Cyclosporin A	59865-13-3	-		-	[30]~		
C216	Cytembena	21739-91-3	+	+	-	[34]		
C217	D&C Red 9	5160-02-1	+	-	+	[93]		
C218	D&C Yellow 11 (AKA C.I. Solvent Yellow 33)	8003-22-3	+	+	-	[36]		
C219	p,p'-DDD	72-54-8	-					
C220	p,p'-DDE	72-55-9	-	+				
C221	DDT	50-29-3	-	E**				
C222	Dacarbazine	4342-03-4	+		+	[11]		
C223	Daminozide	1596-84-5	-	-	E	[50]		
C224	Danthron	117-10-2	+	+	-	[50]		
C225	Dapsone	80-08-0	-	E				
C226	Decabromodiphenyl oxide	1163-19-5	-	-	+	[50]		
C227	Dehydroepandrosterone	53-43-0	-					
C228	Dehydroepandrosterone acetate	853-23-6						
C229	Dextran sulphate sodium	9011-18-1						
C230	N-1-Diacetamidofluorene	63019-65-8						
C231	Dilalate	2303-16-4	+					
C232	1,1-Diallylhydrazine	5164-11-4						
C233	1,2-Diallylhydrazine 2HCl	26072-78-6						
C234	Diallylnitrosamine	16338-97-9	+					
C235	2,4-Diaminoanisole sulphate	39156-41-7	+	+				
C236	4,6-Diamino-2-(5-nitro-2-furyl)-s-triazine	720-69-4	+					
C237	2,4-Diaminophenol 2HCl	137-09-7	+	-				
C238	2,4-Diaminotoluene	95-80-7	+	+	-	[11]~	+	[16]

ID	Chemical	CAS No.	Ames	In vitro C.A	In vivo MN	In vivo MN Ref.	TGR	TGR Ref.
C239	2,4-Diaminotoluene 2HCl	636-23-7	+					
C240	Diazepam	439-14-5	-	-	+	[94]		
C241	3-Diazotyramine HCl	-						
C242	Dibenz[a,h]anthracene	53-70-3	+		+	[11]		
C243	3-Dibenzofuranamine	4106-66-5						
C244	1,2-Dibromo-3-chloropropane	96-12-8	+	+	+	[11]	+^	[16]
C245	Dibromodulcitol	10318-26-0	+					
C246	1,2-Dibromoethane	106-93-4	+	+	E	+ [36]; - [44, 45]	+^	[16]
C247	Dibromomannitol	488-41-5	+	+	+	[50]		
C248	1,1-DI-N-butylhydrazine	7422-80-2						
C249	1,2-DI-N-butylhydrazine HCl	78776-28-0						
C250	1,3-Dibutyl-1-nitrosourea	56654-52-5	+	+				
C251	Dichloroacetic acid	79-43-6	+	+	-	[50]	+	[16]
C252	Dichloroacetylene	7572-29-4						
C253	1,4-Dichlorobenzene	106-46-7	-	-	-	[11, 36, 50]		
C254	3,3'-Dichlorobenzidine	91-94-1	+		E	[11]		
C255	trans-1,4-Dichlorobutene-2	110-57-6	+					
C256	3,5-Dichloro(N-1,1-dimethyl-2-propynyl)benzamide	23950-58-5						
C257	1,2-Dichloroethane	107-06-2	+	+	-	[11, 36]	-^	[16]~
C258	Dichloromethane	75-09-2	+	+	-	[11]~		
C259	2,6-Dichloro-p-phenylenediamine	609-20-1	+	+	-	[34]		
C260	1,2-Dichloropropane	78-87-5	+	+	-	[95]		
C261	1,3-Dichloropropene (AKA Telone II)	542-75-6	+	-	-	[11, 34]		
C262	Dichlorvos	62-73-7	+	+	-	[50]		
C263	Dicofof	115-32-2	-	-				
C264	Dieldrin	60-57-1	-	+	+	[96]		
C265	Diethanolamine	111-42-2	-	-	-	[36]		
C266	Diethylacetamide	685-91-6						
C267	Diethylene glycol	111-46-6	-					
C268	Di(2-ethylhexyl)adipate	103-23-1	-	E	-	[34]		
C269	Di(2-ethylhexyl)phthalate	117-81-7	-	-	-	[97]	-	[16]~
C270	N,N-diethyl-4-(4'-[pyridyl-1'-oxide]azo)aniline	7347-49-1						
C271	Diethylstilbestrol	56-53-1	-	+	E	[11, 50]		
C272	Diethylstilbestrol dipropionate	130-80-3	-		-	[98]		
C273	N,N'-Diethyl-2-thiourea	105-55-5	-	-				
C274	1,2-Diformylhydrazine	628-36-4						
C275	Diflalone	21626-89-1						
C276	Diglycidyl resorcinol ether, technical grade	101-90-6	+	+	-	[34]		
C277	3,4-Dihydrocoumarin	119-84-6	-	-	+	[36]		
C278	1,2-Dihydro-2-(5-nitro-2-thienyl)quinazolin-4(3H)-one	33389-33-2	+					

ID	Chemical	CAS No.	Ames	<i>In vitro</i> CA	<i>In vivo</i> MN	<i>In vivo</i> MN Ref.	TGR	TGR Ref.
C279	3,6-Dihydro-2-nitroso-2H-1,2-oxazine	3276-41-3						
C280	Dihydrosafrole	94-58-6	-					
C281	1,2-Dihydro-2,2,4-trimethylquinoline	147-47-7	-	-	-	[36]		
C282	Dimethoxane	828-00-2	+	+				
C283	2,5-Dimethoxy-4'-aminostilbene	5803-51-0						
C284	3,3'-Dimethoxybenzidine-4,4'-dilsocyanate	91-93-0	+	+				
C285	3,3'-Dimethoxybenzidine 2HCl	20325-40-0	+		- d	[11]~		
C286	5,6-Dimethoxystyrenylmethylcystin	65176-75-2						
C287	N,N-Dimethyl-4-aminoazobenzene	60-11-7	+	+	-	[11]~		
C288	6-Dimethylamino-4,4-diphenyl-3-heptanol acetate HCl	43033-72-3						
C289	Dimethylaminoethylnitrosoethylurea, nitrile salt	142713-77-7						
C290	trans-2-[(Dimethylamino)methylimino]-5-[2-(5-nitro-2-furyl)vinyl]-1,3,4-oxadiazole	55738-54-0	+					
C291	N,N-Dimethylaniline	121-69-7	-	+				
C292	7,12-Dimethylbenz[a]anthracene	57-97-6	+	+	+	[30]	+	[16]
C293	3,3'-Dimethylbenzidine	119-93-7	+	+	-	[11]~		
C294	3,3'-Dimethylbenzidine 2HCl	612-82-8	+	+				
C295	Dimethylcarbamoyl chloride	79-44-7	+	+	-	[11]		
C296	1,1-Dimethylhydrazine	57-14-7	+		+	[11]		
C297	1,2-Dimethylhydrazine 2HCl	306-37-6	+		+	[11]		
C298	2-(2,2-Dimethylhydrazino)-4-(5-nitro-2-furyl)thiazole	26049-69-4	+					
C299	Dimethyl hydrogen phosphite	868-85-9	+	+	+	[34]		
C300	Dimethyl methylphosphonate	756-79-6	-	TC				
C301	Dimethyl morpholinophosphoramidate	597-25-1	-	E				
C302	Dimethylnitramine	4164-28-7	+					
C303	4,6-Dimethyl-2-(5-nitro-2-furyl)pyrimidine	59-35-8						
C304	1,2-Dimethyl-5-nitroimidazole	551-92-8	+					
C305	Dimethylvinyl chloride	513-37-1	+	-	+	[50]		
C306	Dinitrosomopiperazine	55557-00-1	+					
C307	Di-(N-nitroso)-perhydroimidine	15973-99-6						
C308	Dinitrosopiperazine	140-79-4	+					
C309	2,4-Dinitrotoluene	121-14-2	+	-	-	[30]~		
C310	2,6-Dinitrotoluene	606-20-2	+		-	[45, 99]		
C311	Dinitrotoluene, technical grade	25321-14-6	+					
C312	1,4-Dioxane	123-91-1	-	-	-	[11]~		
C313	Dipentylnitrosamine	13256-06-9						
C314	5,5-Diphenylhydantoin	57-41-0	-	E	-	[50]		
C315	Dipyrene	68-89-3						
C316	Doxylamine succinate	562-10-7	-	-	-	[100]		
C317	alpha-Ecdysone	3604-87-3						
C318	Enovid	8015-30-3						

ID	Chemical	CAS No.	Ames	<i>in vitro</i> CA	<i>in vivo</i> MN	<i>in vivo</i> MN Ref.	TGR	TGR Ref.
C319	Epichlorohydrin	106-89-8	+	+	-	[11]-		
C320	1,2-Epoxybutane	106-88-7	+	+	-	[50]		
C321	17- β -Estradiol	50-28-2	-	-	-	[50, 101]	-	[16]-
C322	Estradiol mustard	22966-79-6						
C323	Estragole	140-67-0	-		-	[50]		
C324	Ethinyl estradiol	57-63-6	-	-	-	[50]		
C325	Ethlonamide	536-33-4	-	+				
C326	Ethionine	13073-35-3	-					
C327	DL-Ethionine	67-21-0	-	-				
C328	o-Ethoxybenzamide	938-73-8	-	+				
C329	Ethyl acrylate	140-88-6	-	+	-	[11]		
C330	Ethyl alcohol	64-17-5	-		-	[102]		
C331	Z-Ethyl-O,N,N-azoxyethane	16301-26-1						
C332	Z-Ethyl-O,N,N-azoxymethane	57497-29-7						
C333	Ethylbenzene	100-41-4	-	-	-	[36]		
C334	Ethylene glycol monobutyl ether	111-76-2	-	-	-	[36]		
C335	Ethylene imine (AKA Aziridine)	151-56-4	+					
C336	Ethylene oxide	75-21-8	+	+	+	[30]	+	[16]
C337	N,N'-Ethylenethiourea	96-45-7	E	-	-	[11]-		
C338	N-Ethyl-N-formylhydrazine	74920-78-8						
C339	Ethyhydrazine HCl	18413-14-4						
C340	Ethyl methanesulphonate	62-50-0	+	+	+	[50]	+^	[16]
C341	N-Ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine	63885-23-4	+	+				
C342	Ethyl nitrosocyanamide	38434-77-4	+					
C343	1-Ethyl nitroso-3-(2-hydroxyethyl)-urea	-						
C344	1-Ethyl nitroso-3-(2-oxopropyl)-urea	110559-84-7						
C345	1-Ethyl-1-nitrosourea	759-73-9	+	+	+	[50]	+	[16]
C346	4-Ethylsulphonylnaphthalene-1-sulfonamide	842-00-2						
C347	FD&C Green 1	4680-78-8						
C348	FD&C Green 2	5141-20-8	-					
C349	FD&C Red 1 (Ponceau 3R)	3564-09-8	-		-	[11]		
C350	FD&C Red 2	915-67-3	-					
C351	FD&C Red 4 (AKA C.I. Food Red 1)	4548-53-2	-					
C352	FD&C Violet 1 (AKA Benzyl Violet 4B)	1694-09-3	+					
C353	Finasteride	98319-26-7						
C354	Fluconazole	86386-73-4						
C355	N-(2-Fluorenyl)-2,2,2-trifluoroacetamide	363-17-7						
C356	4'-Fluoro-4-aminobiphenyl	324-93-6						
C357	N-4-(4'-Fluorobiphenyl)acetamide	398-32-3						
C358	2-Fluoroethyl-nitrosourea	69112-98-7						

ID	Chemical	CAS No.	Ames	In vitro CA	In vivo MN	In vivo MN Ref.	TGR	TGR Ref.
C359	5-Fluorouracil	51-21-6	-	+	+	[30]		
C360	Fluvastatin	93957-54-1	-	-	-	[103]		
C361	Formaldehyde	50-00-0	+	+	-	[11]-		
C362	Formic acid 2-(4-methyl-2-thiazolyl)hydrazide	32852-21-4						
C363	Formic acid 2-[4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl]hydrazide	3570-75-0	+					
C364	Formylhydrazine	624-84-0						
C365	Fosetyl Al	39148-24-8	-					
C366	Fumonisin B1	116355-83-0	-	+	+	[104]		
C367	Furan	110-00-9	-	+	E	[50]		
C368	Furfural	98-01-1	E	+				
C369	Furfuryl Alcohol	98-00-0	-	E	-	[50]		
C370	Furosemide	54-31-9	-	+	-	[50]		
C371	Furylfuramide (AF-2)	3688-53-7	+	+	+	[11]		
C372	Gallium arsenide	1303-00-0	-		-	[36]		
C373	Gentian violet (AKA Hexamethyl-p-rosaniline chloride)	548-62-9	E	-				
C374	N2-gamma-Glutamyl-p-hydrazinobenzoic acid	-						
C375	Glycidaldehyde	765-34-4	+					
C376	Glycidol	556-52-5	+	+	+	[50]		
C377	Griseofulvin	126-07-8	-	+	-	[11]-		
C378	Haloperidol	52-86-8		+	+ e	[46]		
C379	HC Blue 1 (Impure and purified)	2784-94-3	+	+	-	[105]		
C380	HCDD mixture	Mixture						
C381	Hematoxylin	517-28-2	-	TC				
C382	Heptachlor	76-44-8	-	+			-	[16]-
C383	Hexachlorobenzene	118-74-1	-	TC				
C384	Hexachlorobutadiene	87-68-3	-	-			+	[16]
C385	Hexachlorocyclohexane, technical grade	608-73-1						
C386	alpha-1,2,3,4,5,6-Hexachlorocyclohexane	319-84-6						
C387	beta-1,2,3,4,5,6-Hexachlorocyclohexane	319-85-7	-					
C388	gamma-1,2,3,4,5,6-Hexachlorocyclohexane (AKA Lindane)	58-89-9	-	-	-	[11]-		
C389	Hexachloroethane	67-72-1	-	-				
C390	Hexamethylmelamine	531-18-0	-					
C391	Hexanal methylformylhydrazone	57590-22-4						
C392	Hexanamide	628-02-4	-	-*				
C393	N-Hexylnitrosourea	18774-85-1	+					
C394	Hydrazine	302-01-2	+		+	[11]		
C395	Hydrazine sulphate	10034-93-2	+	+			-	[16]-
C396	2-Hydrazino-4-(p-aminophenyl)thiazole	26049-71-8						
C397	2-Hydrazino-4-(5-nitro-2-furyl)thiazole	26049-68-3						
C398	2-Hydrazino-4-(p-nitrophenyl)thiazole	26049-70-7						

ID	Chemical	CAS No.	Ames	<i>in vitro</i> CA	<i>in vivo</i> MN	<i>in vivo</i> MN Ref.	TGR	TGR Ref.
C399	p-Hydrazinobenzoic acid HCl	24589-77-3						
C400	Hydrazobenzene	122-66-7	+	+				
C401	Hydrogen Peroxide	7722-84-1	+	+	-	[106]		
C402	Hydroquinone	123-31-9	-	+	+	[50]	-	[107]
C403	N-Hydroxy-2-acetylaminofluorene	53-95-2	+	+			+	[16]
C404	4-Hydroxyaminoquinoline-N-oxide	4637-56-3	+					
C405	1-Hydroxyanthraquinone	129-43-1						
C406	3-Hydroxy-p-butyrophenetidine	1083-57-4						
C407	1'-Hydroxyestragole	51410-44-7	-					
C408	4-(2-Hydroxyethylamino)-2-(5-nitro-2-thienyl)quinazoline	33389-36-5	+					
C409	1-(2-Hydroxyethyl)-3-[(5-nitrofurfurylidene)amino]-2-imidazolidinone	5036-03-3	+					
C410	1-(2-Hydroxyethyl)-nitroso-3-ethylurea	-						
C411	1-(2-Hydroxyethyl)-1-nitrosourea	13743-07-2	+					
C412	2-Hydroxyethylhydrazine	109-84-2	+					
C413	1-(3-Hydroxypropyl)-1-nitrosourea	71752-70-0						
C414	1'-Hydroxysafrole	5208-87-7	-					
C415	ICR 170	146-89-8	+					
C416	ICRF 159	21416-87-5	-**		+	[24]		
C417	Indolidan	100643-96-7	-					
C418	Iodinated glycerol	5634-39-9	+	E	-	[50]		
C419	Isobutyl nitrite	542-56-3	+	+	+	[36]		
C420	Isomazole	86315-52-8	-					
C421	Isoniazid	54-85-3	+	+				
C422	Isonicotinic acid vanylidenehydrazide	149-17-7						
C423	Isophorone	78-59-1	-	+	-	[108]		
C424	Isophosphamide	3778-73-2	+					
C425	Isoprene	78-79-5	-	-	+	[36]		
C426	Kepone (AKA Chlordane)	143-50-0	-	-				
C427	Lasiocarpine	303-34-4	+	+	+	[50]		
C428	Lead Acetate	301-04-2	-	+	-	[11]		
C429	Lead acetate, basic	1335-32-6						
C430	Leupeptin	24365-47-7						
C431	D-limonene	5989-27-5	-	-			-	[16]-
C432	Luteoskyrin	21884-44-6	-					
C433	Malonaldehyde sodium salt	24382-04-5	-	-				
C434	Manganese ethylenedithiocarbamate	12427-38-2		+				
C435	MeA-alpha-C acetate	-	+					
C436	Melamine	108-78-1	-	-	-	[34]		
C437	Melphaian	148-82-3	+	+	+	[11]		
C438	2-Mercaptobenzothiazole	149-30-4	-	+	-	[50]		

ID	Chemical	CAS No.	Ames	<i>In vitro</i> C.A	<i>In vivo</i> MN	<i>In vivo</i> MN Ref.	TGR	TGR Ref.
C439	Mercuric chloride	7487-94-7	-	+	+f	[47, 48]		
C440	Mercurymethylchloride	115-09-3	-	+				
C441	Metepa	57-39-6			+	[109]		
C442	Methapyriene hydrochloride	135-23-9	E	+				
C443	Methidathion	950-37-8	-		-	[110]		
C444	Methimazole	60-56-0	-	+	-	[111]		
C445	3-Methoxy-4-aminoazobenzene	3544-23-8	+					
C446	2-Methoxy-3-aminodibenzofuran	5834-17-3						
C447	3-Methoxycatechol	934-00-9						
C448	4-Methoxyphenol (AKA Hydroquinone monomethyl ether)	150-76-5	-	+				
C449	6-Methoxyypsoralen	298-81-7	+	+	E	[50]		
C450	Z-Methyl-O,N,N-azoxyethane	57497-34-4						
C451	Methylazoxymethanol acetate	592-62-1	+	+				
C452	alpha-Methylbenzyl alcohol	98-85-1	-	+				
C453	3-Methylbutanal methylformylhydrazone	57590-21-3						
C454	Methyl tert-butyl ether	1634-04-4	-	-	-	[50]		
C455	Methyl carbamate	598-55-0	-	-	-	[50]		
C456	4-Methylcatechol	452-86-8	-		-	[50]		
C457	3-Methylcholanthrene	56-49-5	+	+	+	[112]	+^	[16]
C458	Methyl clofenapate	21340-68-1	-**	-**	-	[25]	-	[16]-
C459	1-Methyl-1,4-dihydro-7-[2-(5-nitrofuryl)vinyl]-4-oxo-1,8-naphthyridine-3-carboxylate, potassium	-						
C460	3'-Methyl-4-dimethylaminoazobenzene	55-80-1	+	+				
C461	N-Methyl-N,4-dinitrosoaniline	99-80-9						
C462	4,4'-Methylenebis(2-chloroaniline)	101-14-4	+	+	-	[11, 35]-		
C463	4,4'-Methylene-bis(2-chloroaniline) 2 HCl	64049-29-2	+					
C464	4,4'-Methylenebis(N,N-dimethylaniline)	101-61-1	+	-				
C465	4,4'-Methylene-bis(2-methylaniline)	838-88-0	+					
C466	4,4'-Methylenedianiline 2HCl	13552-44-8	+	+	+g	[34]		
C467	Methyleugenol	93-15-2	-	-	-	[36]		
C468	N-Methyl-N-formylhydrazine	758-17-8						
C469	Methylhydrazine	60-34-4	-					
C470	Methylhydrazine sulphate	302-15-8						
C471	Methyl iodide	74-88-4	+					
C472	Methyl methanesulphonate	66-27-3	+	+	+	[30]	+	[16]
C473	Methylnitramine	598-57-2						
C474	2-Methyl-1-nitroanthraquinone	129-15-7	+	+				
C475	4-Methyl-1-[(5-nitrofurfurylidene)amino]-2-imidazolone	21638-36-8	+					
C476	N-Methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine	70-25-7	+	+	+	[30]	+	[16]
C477	4-(Methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-butanol	76014-81-8						
C478	4-(Methylnitrosamino)-1-(3-pyridyl)-1-(butanone) (NNK)	64091-91-4	+++	+++	E	+ [26, 51]; - [50]	+	[16]

ID	Chemical	CAS No.	Ames	In vitro CA	In vivo MN	In vivo MN Ref.	TGR	TGR Ref.
C479	4-(4-N-Methyl-N-nitrosaminostryl)quinoline	16699-10-8						
C480	(N-6)-(Methylnitroso)adenine	21928-82-5						
C481	(N-6)-(Methylnitroso)adenosine	41286-73-1						
C482	N-Methyl-N-nitrosobenzamide	63412-06-6	+					
C483	N-(N-Methyl-N-nitrosocarbonyl)-L-ornithine	63642-17-1						
C484	Methylnitrosocyanamide	33868-17-6	+	+				
C485	R(-)-2-Methyl-N-nitrosopiperidine	14026-03-0						
C486	S(+)-2-Methyl-N-nitrosopiperidine	36702-44-0						
C487	N-Methylacrylamide	924-42-5	-	+	-	[113]		
C488	Methylphenidate HCl	298-59-9	-	+	-	[50]		
C489	Metronidazole	443-48-1	+	+	-	[11]-	- ^A	[16]-
C490	Mirex	2385-85-5	-	-				
C491	Mirex, photo-	39801-14-4						
C492	Mitomycin C	50-07-7	+	+	+	[30]	+ ^A	[16]
C493	Molybdenum trioxide	1313-27-5	-	-				
C494	Monocetyl hydrazine	1068-57-1			+	[114]		
C495	Monocrotaline	315-22-0	-	+	+	[11]		
C496	L-5-Morpholinomethyl-3-[(5-nitrofurfurylidene) amino]-2-oxazolidinone HCl	3031-51-4						
C497	4-Morpholino-2-(5-nitro-2-thienyl)quinazoline	58139-48-3	+					
C498	Nafenopin	3771-19-5	-	+				
C499	Nalidixic acid	389-08-2	+	-				
C500	Naphthalene	91-20-3	-	+	-	[32]-		
C501	1,5-Naphthalenediamine	2243-62-1	+	+				
C502	2-Naphthylamine	91-59-8	+	+	-	[11]-		
C503	Nickel sulfate heptahydrate	10101-98-1						
C504	Nicotinic acid hydrazide	553-53-7						
C505	Nitiazide	139-94-6	+	-				
C506	Nitriotrtaoetic acid	139-13-9	-	-	-	[115]		
C507	Nitriotrtaoetic acid, trisodium salt	5064-31-3						
C508	Nitriotrtaoetic acid, trisodium salt, monohydrate	18662-53-8	-	-				
C509	Nitrite, sodium	7632-00-0	+	- ^A	E	+ [30, 52]; - [50]	-	[38]
C510	5-Nitroacenaphthene	602-87-9	+	E	-	[11]-		
C511	3-Nitro-p-acetophenetide	1777-84-0	+					
C512	5-Nitro-o-anisidine	99-59-2	+	-				
C513	o-Nitroanilole	91-23-6	+	+				
C514	Nitrobenzene	98-95-3	-	- ^A	-	[116]		
C515	6-Nitrobenzimidazole	94-52-0	+	+				
C516	p-Nitrobenzoic acid	62-23-7	+	+	-	[36]		
C517	4-Nitrophenyl	92-93-3	+					
C518	Nitrofen	1836-75-5	+	-	-	[11]-		

ID	Chemical	CAS No.	Ames	In vitro C.A	In vivo MN	In vivo MN Ref.	TGR	TGR Ref.
C519	5-Nitro-2-furaldehyde semicarbazone (AKA Nitrofurazone)	59-87-0	+	+	-	[50]		
C520	1-[(5-Nitrofurfurylidene)amino]hydantoin (AKA Nitrofurantoin)	67-20-9	+	+	-	[50]	+	[16]
C521	1-[(5-Nitrofurfurylidene)amino]-2-imidazolidinone	555-84-0						
C522	3-(5-Nitro-2-furyl)-imidazo[1,2-alpha]pyridine	75198-31-1						
C523	5-(5-Nitro-2-furyl)-1,3,4-oxadiazole-2-ol	2122-86-3						
C524	N-[3-(5-Nitro-2-furyl)-1,2,4-oxadiazole-5-yl]-methylacetamide	36133-88-7	+					
C525	N-[5-(5-Nitro-2-furyl)-1,3,4-thiadazol-2-yl]acetamide	2578-75-8	+					
C526	4-(5-Nitro-2-furyl)thiazole	53757-28-1	+					
C527	N-[4-(5-Nitro-2-furyl)-2-thiazolyl]acetamide	531-82-8	+					
C528	N-[4-(5-Nitro-2-furyl)-2-thiazolyl]formamide	24554-26-5	+					
C529	N,N'-[6-(5-Nitro-2-furyl)-s-triazine-2,4-diy]bisacetamide	51325-35-0	+					
C530	Nitrogen mustard	51-75-2	+	+	+	[11]		
C531	Nitrogen mustard N-oxide	126-85-2						
C532	3-Nitro-3-hexene	4812-22-0						
C533	Nitromethane	75-52-5	-	-	-	[36]		
C534	2-Nitro-p-phenylenediamine	5307-14-2	+	+	-	[117]	+	[16]
C535	1-Nitropyrene	5522-43-0	+	+				
C536	8-Nitroquinoline	607-35-2	+					
C537	4-Nitroquinoline-N-oxide	56-57-5	+	+	+	[30]	+	[16]
C538	N-Nitrosoallylethanolamine	91308-69-9						
C539	N-Nitrosoallyl-2,3-dihydroxypropylamine	88208-16-6						
C540	N-Nitrosoallyl-2-hydroxypropylamine	91308-70-2						
C541	N-Nitrosoallyl-2-oxopropylamine	91308-71-3						
C542	Nitrosoamylurethan	64005-62-5						
C543	Nitrosoanabasine	1133-64-8						
C544	Nitroso-Baygon	38777-13-8	+					
C545	N-Nitrosobenzthiazuron	51542-33-7						
C546	N-Nitrosobis(2-hydroxypropyl)amine	53609-64-6						
C547	N-Nitrosobis(2-oxopropyl)amine	60599-38-4						
C548	N-Nitroso-bis-(4,4,4-trifluoro-N-butyl)amine	83335-32-4						
C549	Nitrosodbutylamine	924-16-3	+		-	[11]-		
C550	N-Nitrosodlethanolamine	1116-54-7	+		-	[11]		
C551	N-Nitrosodilethylamine (diethylnitrosamine)	55-18-5	+	-*	-	[11]-	+	[16]
C552	1-Nitroso-5,6-dihydrouracil	16813-36-8	+					
C553	Nitroso-2,3-dihydroxypropylethanolamine	89911-78-4						
C554	N-Nitroso-2,3-dihydroxypropyl-2-hydroxypropyl-amine	89911-79-5	+					
C555	Nitroso-2,3-dihydroxypropyl-2-oxopropylamine	92177-50-9						
C556	N-Nitrosodimethylamine (dimethylnitrosamine)	62-75-9	+	+	+	[30]	+	[16]
C557	1-Nitroso-3,5-dimethyl-4-benzoylpiperazine	61034-40-0	-					
C558	N-Nitrosodiphenylamine	86-30-6	-	-				

ID	Chemical	CAS No.	Ames	In vitro CA	In vivo MN	In vivo MN Ref.	TGR	TGR Ref.
C559	p-Nitrosodiphenylamine	156-10-5	+	+				
C560	N-Nitrosodipropylamine	621-64-7	+		-	[11]~	+	[16]
C561	Nitrosododecamethylethylamine	40580-89-0	+					
C562	N-Nitrosoephedrine	17608-59-2						
C563	Nitrosoethylmethylamine	10595-95-6	+		-	[11]~		
C564	Nitrosoethylurethan	614-95-9	+					
C565	Nitrosoheptamethylethylamine	20917-49-1	+					
C566	N-Nitrosohexamethylethylamine	932-83-2	+					
C567	1-Nitrosohydantoin	42579-28-2	+					
C568	1-Nitroso-1-hydroxyethyl-3-chloroethylurea	96806-34-7						
C569	1-Nitroso-1-(2-hydroxypropyl)-3-chloroethylurea	96806-35-8						
C570	N-Nitroso-(2-hydroxypropyl)-(2-hydroxyethyl)amine	75896-33-2						
C571	N-Nitroso-3-hydroxypyrrolidine	56222-35-6	+					
C572	N-Nitroso-N-isobutylurea	760-60-1						
C573	2-Nitrosomethylaminopyridine	16219-98-0	+					
C574	Nitrosomethylaniline	614-00-6						
C575	N-Nitroso-N-methyldecylamine	75881-22-0						
C576	N-Nitrosomethyl-2,3-dihydroxypropylamine	86451-37-8						
C577	N-Nitroso-N-methyl-N-dodecylamine	55090-44-3	+					
C578	N-Nitroso-N-methyl-4-fluoroaniline	937-25-7						
C579	N-Nitrosomethyl-(2-hydroxyethyl)amine	26921-68-6						
C580	N-Nitrosomethyl-2-hydroxypropylamine	75411-83-5						
C581	N-Nitrosomethyl-(3-hydroxypropyl)amine	70415-59-7						
C582	N-Nitrosomethyl(2-oxopropyl)amine	55984-51-5						
C583	Nitroso-N-methyl-N-(2-phenyl)ethylamine	13256-11-6						
C584	N-Nitroso-N-methyl-N-tetradecylamine	75881-20-8						
C585	N-Nitrosomethyl-(2-tosyloxyethyl)amine	-						
C586	Nitrosomethylundecylamine	68107-26-6						
C587	N-Nitroso-N-methylurea	684-93-5	+	+	+	[50]	+	[16]
C588	N-Nitrosomorpholine	59-89-2	+		+	[11]		
C589	N'-Nitrosomonocotine-1-N-oxide	78246-24-9						
C590	3-Nitroso-2-oxazolidinone	38347-74-9						
C591	Nitroso-2-oxopropylethanolamine	92177-49-6						
C592	N-Nitrosopiperazine	5632-47-3	+					
C593	N-Nitrosopiperidine	100-75-4	+		-	[11]~		
C594	N-Nitrosopyrrolidine	930-55-2	+		-	[11]~	+	[16]
C595	Nitroso-1,2,3,6-tetrahydropyridine	55556-92-8	+					
C596	N-Nitrosothialdine	81795-07-5						
C597	N-Nitrosothiomorpholine	26541-51-5	+					
C598	o-Nitrosotoluene	611-23-4						

ID	Chemical	CAS No.	Ames	<i>In vitro</i> CA	<i>In vivo</i> MN	<i>In vivo</i> MN Ref.	TGR	TGR Ref.
C599	N-Nitroso(2,2,2-trifluoroethyl)ethylamine	82018-90-4						
C600	N-Nitroso-2,2,4-trimethyl-1,2-dihydroquinoline polymer	29929-77-9						
C601	1-Nitroso-3,4,5-trimethylpiperazine	75861-18-4						
C602	5-Nitro-o-toluidine	99-55-8	+	+				
C603	Norelstrin	8015-12-1						
C604	Ochratoxin A	303-47-9	-	-				
C605	Oxazepam	604-75-1	-	-	-	[36]	+	[16]
C606	N-(9-Oxo-2-fluorenyl)acetamide	3096-50-2						
C607	Oxolinic acid	14698-29-4	+					
C608	4,4'-Oxydianiline	101-80-4	+	+	+	[34]		
C609	N-Oxydiethylene thiocarbamyl-N-oxydiethylene sulphenamide	13752-51-7		+				
C610	Oxymetholone	434-07-1	-	-	-	[50, 118]		
C611	Ozone	10028-15-6	+	+				
C612	Pentachloroanisole	1825-21-4	+	-				
C613	Pentachloroethane	76-01-7	-	+	-	[50]		
C614	Pentachloronitrobenzene	82-68-8	-	+				
C615	Pentanal methylformylhydrazone	57590-20-2						
C616	n-Pentylhydrazine HCl	1119-68-2						
C617	Petasitenine	60102-37-6		+				
C618	Phenacetin	62-44-2	+	+	+	[30, 35]		
C619	Phenazone	60-80-0	-					
C620	Phenazopyridine HCl	136-40-3	E	+	+	[11]		
C621	Phenesterin	3546-10-9	-					
C622	Phenobarbital	50-06-6	+	+	+	[30]	-	[16]-
C623	Phenobarbital, sodium	57-30-7	-		-	[11]-		
C624	Phenolphthalein	77-09-8	-	+	+	[36, 50]		
C625	Phenoxybenzamine HCl	63-92-3	+	+	-	[11]		
C626	Phenylbutazone	50-33-9	-	+	-	[50]		
C627	1-Phenyl-3,3-dimethyltriazene	7227-91-0	+		+	[119]		
C628	o-Phenylenediamine 2HCl	615-28-1	+					
C629	Phenylethyldiazine sulphate	156-51-4	+					
C630	Phenyglycidyl ether	122-60-1	+	TC	-	[120]		
C631	Phenyldiazine HCl	59-88-1	+		+ h	[30]		
C632	o-Phenyphenol, sodium	132-27-4	-	-**				
C633	o-Phenyphenol	90-43-7	+	+	-	[121]		
C634	Phorbol	17673-25-5		TC				
C635	Piperonyl butoxide	51-03-6	-	-				
C636	Piperonyl sulphoxide	120-62-7	-	-				
C637	Pivalolactone	1955-45-9	+					
C638	Polybrominated biphenyl mixture	67774-32-7	-		-	[34]		

ID	Chemical	CAS No.	Ames	<i>In vitro</i> CA	<i>In vivo</i> MN	<i>In vivo</i> MN Ref.	TGR	TGR Ref.
C639	Potassium bicarbonate	298-14-6						
C640	Prednimustine	29069-24-7						
C641	Prednisolone	50-24-8	-					
C642	Primacene (primidone)	125-33-7	+	-	-	[50]		
C643	Probenedid	57-66-9	-	-				
C644	Procarbazine	671-16-9	-					
C645	Procarbazine HCl (Natulan)	366-70-1	-	**	+	[30, 122]	+	[16]
C646	Progesterone	57-83-0	-	-				
C647	Propane sulfone	1120-71-4	+	+	+	[11]		
C648	beta-Propiolactone	57-57-8	+	+	-	[11]	+	[16]
C649	1,2-Propylene oxide	75-56-9	+	+	+	[11]		
C650	N-N'-Propyl-N-formylhydrazine	77337-54-3						
C651	Propylhydrazine HCl	56795-66-5						
C652	N-Propyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine	13010-07-6	+	+				
C653	N-Propyl-N-nitrosoourea	816-57-9	+	+	+	[123]	+	[16]
C654	Propylthiouracil	51-52-5	-	TC				
C655	Pyridine	110-86-1	-	-	-	[50]		
C656	Pyriamine maleate	59-33-6			-	[50]		
C657	Pyrimethamine	58-14-0	-	+	+ l	[45, 53]		
C658	Quercetin	117-39-5	+	+	-	[32]-		
C659	p-Quinone dioxime	105-11-3	+	+	-	[124]		
C660	Reserpine	50-55-5	-	-	+ e	[83]		
C661	Retinol acetate	127-47-9		+				
C662	Rifampicin	13292-46-1						
C663	Ripazepam	26308-28-1						
C664	Saccharin, sodium	128-44-9	-	-*	-	[125]	-	[16]-
C665	Safrole	94-59-7	-	+				
C666	Salbutamol	18559-94-9						
C667	SDZ 200-110	-						
C668	Selenium diethyldithiocarbamate	5456-26-0						
C669	Selenium sulphide	7446-34-6	+	+	-	[50]		
C670	Senkirkine	2318-18-5	+	TC				
C671	Sesamol	533-31-3	-					
C672	Sodium dichromate	10588-01-9	+	+	+ j	[126]		
C673	Sterigmatocystin	10048-13-2	+					
C674	Streptozotocin	18883-66-4	+		+	[127, 128]	+	[16]
C675	Strobane	8001-50-1						
C676	Styrene	100-42-5	-	+	+ k	[30, 32, 50]		
C677	Styrene oxide	96-09-3	+	+	-	[11, 32]		
C678	Succinic anhydride	108-30-5	-	-				

ID	Chemical	CAS No.	Ames	In vitro CA	In vivo MN	In vivo MN Ref.	TGR	TGR Ref.
C679	Sulfalate	95-06-7	+					
C680	Sulfamethazine	57-68-1	-	-				
C681	Sulfamethoxazole	723-46-6	-					
C682	4,4'-Sulfonylbisacetanilide	77-46-3						
C683	5X Purple	2611-82-7			-	[81]	- ^A	[39]
C684	Symphytine	22571-95-5						
C685	Tamoxifen citrate	54965-24-1			+	[129, 130]		
C686	Terbutaline	23031-25-6						
C687	Testosterone	58-22-0			-	[131]		
C688	3,3',4,4'-Tetraaminobiphenyl 4HCl	7411-49-6						
C689	2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-dioxin	1746-01-6	-	-	-	[132]	-	[16]-
C690	1,1,1,2-Tetrachloroethane	630-20-6	-	+	+	[50]		
C691	1,1,2,2-Tetrachloroethane	79-34-5	-	-	+	[50]		
C692	Tetrachloroethylene	127-18-4	-	-	-	[50]		
C693	Tetrachlorvinphos	961-11-5	-	-				
C694	12-O-Tetradecanoylphorbol 13-acetate	16561-29-8	-	+			-	[16]-
C695	Tetrafluoro-m-phenylenediamine 2HCl	63886-77-1						
C696	Tetrahydrofuran	109-99-9	-	-	-	[36]		
C697	Tetrahydro-2-nitroso-2H-1,2-oxazine	40548-68-3						
C698	Tertantrromethane	509-14-8	+	+				
C699	Thioacetamide	62-55-5	-	TC	+	[30]		
C700	4,4'-Thiodianiline	139-65-1	+	+				
C701	beta-Thioguanine deoxyriboside	64039-27-6						
C702	Thio-tepa	52-24-4	+	+	+	[119]	+ ^A	[16]
C703	Thiouracil	141-90-2						
C704	Thiourea	62-56-6	-		-	[133]		
C705	Titanium dioxide	13463-67-7	-	-	+	[34]		
C706	Toluene	108-88-3	-	-	+	[30]		
C707	2,4-Toluene diisocyanate	584-84-9	+	-				
C708	Toluene diisocyanate, commercial grade (2,4 and 2,6)	26471-62-5	+	-	-	[134]		
C709	o-Toluenesulfonamide	88-19-7	-		-	[135]		
C710	m-Toluidine HCl	638-03-9	-					
C711	o-Toluidine	95-53-4	+	+	+I	[49, 50]		
C712	o-Toluidine HCl	636-21-5	+	E	-	[89]		
C713	p-Toluidine HCl	540-23-8	+					
C714	p-Tolylurea	622-51-5	-					
C715	Toxaphene	8001-35-2	+					
C716	Trenimon	68-76-8	+	+	+	[136]		
C717	Triamcinolone acetonide	76-25-5						
C718	Triamterene	396-01-0	-	+				

ID	Chemical	CAS No.	Ames	In vitro CA	In vivo MN	In vivo MN Ref.	TGR	TGR Ref.
C719	Tribromomethane	75-25-2	+	+	-	[50]		
C720	Trichloroacetic acid	76-03-9	-	TC	-	[32]		
C721	2,4,6-Trichloroaniline	634-93-5	-					
C722	1,1,2-Trichloroethane	79-00-5	-	+	-	[137]		
C723	Trichloroethylene (with and without epichlorohydrin)	79-01-6	-	-	-	[34]	-	[16]~
C724	N-(Trichloromethylthio)phthalimide	133-07-3	+	+				
C725	2,4,6-Trichlorophenol	88-06-2	-	-				
C726	1,2,3-Trichloropropane	96-18-4	+	+				
C727	Triethanolamine	102-71-6	-	-	-	[36]		
C728	2,2,2-Trifluoro-N-[4-(5-nitro-2-furyl)-2-imidazolyl]acetamide	42011-48-3	+					
C729	Trifluralin, technical grade	1582-09-8	+	-				
C730	2,4,5-Trimethylaniline	137-17-7	+	+				
C731	2,4,5-Trimethylaniline HCl	21436-97-5	+					
C732	2,4,6-Trimethylaniline HCl	6334-11-8						
C733	1,2,4-Trimethylbenzene	95-63-6	-		-	[138]		
C734	Trimethylphosphate	512-66-1	+	- ^a	+	[139]		
C735	Trimethylthiourea	2489-77-2	-	-				
C736	2,4,6-Trinitro-1,3-dimethyl-5-tert-butylbenzene	81-15-2						
C737	Trinitroglycerin	55-63-0	+					
C738	Tris(2-chloroethyl)phosphate	115-96-8	-	-	+	[30]		
C739	Tris-1,2,3-(chloromethoxy)propane	38571-73-2						
C740	Tris(2,3-dibromopropyl)phosphate	126-72-7	+	+	+	[11]	+	[16]
C741	Tris(2-ethylhexyl)phosphate	78-42-2	-	-	-	[50]		
C742	Uracil	66-22-8	-				+	[16]
C743	Uracil (uracil mustard)	66-75-1	+					
C744	Urethane	51-79-6	+	- ^a	+	[30, 122]	+	[16]
C745	Vanadium Pentoxide	1314-62-1	-	+	-	[50]		
C746	Vinyl acetate	108-05-4	-		+	[30]		
C747	Vinyl bromide	593-60-2	+		-	[11]~		
C748	Vinyl carbamate	15805-73-9	+		+	[140]	+	[16]
C749	Vinyl chloride	75-01-4	+		+	[30]		
C750	4-Vinylcyclohexene	100-40-3	-	-	-	[141]		
C751	Vinylidene chloride (1,1-Dichloroethylene)	75-35-4	-	TC	-	[30]~		
C752	2,4-Xylydine HCl	21436-96-4	+					
C753	2,5-Xylydine HCl	51786-53-9	+					
C754	Zearalenone	17924-92-4	-	+	+	[142]		
C755	Zinc dimethyldithiocarbamate (Ziram)	137-30-4	+	+	-	[143]		
C756	Zinc ethylenebisthiocarbamate (Zineb)	12122-67-7	-		-	[144]		
	Ames, Ames test; CA, chromosome aberration test; MN, rodent erythrocytes micronucleus test; TGR, transgenic rodent mutation assay							

ID	Chemical	CAS No.	Ames	<i>In vitro</i> CA	<i>In vivo</i> MN	<i>In vivo</i> MN Ref.	TGR	TGR Ref.
	Results of genotoxicity data are given as follows:							
	+, positive; -, negative;							
	E, equivocal result, when response is weak or not reproduced between experiments or between laboratories;							
	TC, technically compromised;							
	*, positive response at both >10 mM and ~2 mg/mL [29];							
	**, new data or alteration of the results from the original CGX [10];							
	^, not in the target tissue(s) of carcinogenicity;							
	~, no information on target cell exposure in the review paper or database for negative result <i>in vivo</i> .							
	a, positive in rat treated by intravenous injection [11, 35]; b, maybe due to hypothermia; c, negative in rat [35]; d, as free base (119-90-4);							
	e, maybe due to hypothermia in mouse, but negative in rat; f, negative in rat [48];							
	g, negative as free base (101-77-9) [11, 49]; h, as free base (100-63-0); i, positive in rat, but negative in the mouse;							
	j, positive by intraperitoneal injection, but negative by oral gavage; k, negative in rat [32];							
	l, positive in rat, but negative in mouse [11, 50]							

Appendix 2: Genotoxicity test results with rodent non-carcinogens								
ID	Chemical	CAS No.	Ames	<i>in vitro</i> CA	<i>in vivo</i> MN	<i>in vivo</i> MN Ref.	TGR	TGR Ref.
NC1	Acetohexamide	968-81-0	-	+				
NC2	Acetonitrile [AKA ethyl nitrile]	75-05-8	-	E	+	[33]		
NC3	Acrolein	107-02-8	+	-	-	[50]		
NC4	Adipamide	628-94-4	-					
NC5	Agar	9002-18-0						
NC6	Aldicarb	116-06-3	-	-	E	[33]		
NC7	Aluminum potassium sulfate	10043-67-1	-	TC				
NC8	di-Amphetamine sulfate	60-13-9	E	-	+ a	[30]		
NC9	Ampicillin trihydrate	7177-48-2	-	-	-	[31]~		
NC10	Anilazine	101-05-3	-	-				
NC11	p-Anilidine HCl	20265-97-8	+					
NC12	o-Anthranilic acid	118-92-3	-	-*	-	[89]		
NC13	l-Ascorbic acid	50-81-7	E	-	+	[34]		
NC14	Aspirin, phenacetin, and caffeine	8003-03-0	-					
NC15	Azinphosmethyl [AKA gusathion]	86-50-0	+					
NC16	Barium chloride dihydrate	10326-27-9	-	-				
NC17	Benzoate, sodium	532-32-1	-	+				
NC18	Benzoin	119-53-9	-	+	-	[34, 135]		
NC19	1H-Benzotriazole	95-14-7	+	+				
NC20	Benzyl alcohol	100-51-6	-	-*	-	[81]		
NC21	Beryllium sulfate	13510-49-1	-		-	[146]		
NC22	Black PN [AKA Food Black 1]	2519-30-4						
NC23	Bromomethane	74-83-9	+	E	+	[36]		
NC24	n-Butyl chloride	109-69-3	-	-				
NC25	N-Butylurea	592-31-4	-	TC				
NC26	gamma-Butyrolactone	96-48-0	-		-	[147]		
NC27	Caffeine	58-08-2	-	+	E	[33]		
NC28	Caprolactam	105-60-2	-	E	-	[148]		
NC29	Carbomal	77-65-6	-	+				
NC30	2-Chloroacetophenone	532-27-4	-	E				
NC31	4-(Chloroacetyl)-acetanilide	140-49-6	+	+				
NC32	p-Chloroaniline	106-47-8	+	+	E	[33]		
NC33	o-Chlorobenzalmonitrile [AKA malonitrile, o-chlorobenzylidene]	2698-41-1	E	+	-	[149]		
NC34	Chlorodifluoromethane [AKA fluorocarbon 22]	75-45-6	+					
NC35	(2-Chloroethyl)trimethylammonium chloride	999-81-5	-	-				
NC36	2-(Chloromethyl)pyridine HCl	6959-47-3	+	+	-	[50]		
NC37	3-Chloro-p-toluidine [AKA 4-methyl-5-chloro-1-aniline]	95-74-9	-	E				

ID	Chemical	CAS No.	Ames	<i>in vitro</i> CA	<i>in vivo</i> MN	<i>in vivo</i> MN Ref.	TGR	TGR Ref.
NC38	Chlorpheniramine maleate	113-92-8	-	+	-	[50]		
NC39	Chlorpropamide	94-20-2	-	+	E	[33]		
NC40	C.I. acid orange 10	1936-15-8	-	+	-	[34]		
NC41	C.I. food red 3 [AKA Acid red 14]	3667-69-9	+	-	-	[34]		
NC42	C.I. pigment red 23 [AKA pigment red 23]	6471-49-4	+	-				
NC43	C.I. pigment yellow 12	6356-85-6	-	-				
NC44	Codeine	76-57-3	-		-	[150]		
NC45	Coumaphos	56-72-4	-	-	-	[151]		
NC46	Cyanamide, calcium	156-62-7	+	-	-	[152]		
NC47	Cyclohexanone	108-94-1	-	-				
NC48	Cyclohexylamine HCl	4998-76-9	-					
NC49	Deltamethrin	52918-63-5	-	-	+	[33]		
NC50	Diallyl phthalate	131-17-9	-	+	-	[33, 34]		
NC51	4,4-Diamino-2,2-stilbenedisulfonic acid, disodium salt	7336-20-1	-					
NC52	2,6-Diaminotoluene 2HCl	15481-70-6	+	+	E	[33]	-	[16]~
NC53	2,5-Diaminotoluene sulfate	6369-59-1	+	+	-	[33]~		
NC54	Diazinon	333-41-5	-	+	+	[153]		
NC55	Dibenzo-p-dioxin	262-12-4	-					
NC56	1,2-Dichlorobenzene	95-50-1	-	-	-	[34, 50]		
NC57	2,7-Dichlorodibenzo-p-dioxin	33857-26-0	-					
NC58	Dichlorodifluoromethane	75-71-8	-					
NC59	1,1-Dichloroethane	75-34-3	-	-	+	[154]		
NC60	2,4-Dichlorophenol	120-83-2	E	+	-	[155]		
NC61	N,N-Dicyclohexylthiourea	1212-29-9	-	-				
NC62	Dieldrin, photo-	13366-73-9	+	-				
NC63	Dimethoate	60-51-5	+	+	+	[33]		
NC64	Dimethoxane, commercial grade [AKA acetic acid ester with 2,6-dimethyl-m-dioxan-4-ol]	828-00-2	+	+				
NC65	2,4-Dimethoxyaniline HCl	54150-69-5	+	+	-	[50]		
NC66	6-Dimethylamino-4,4-diphenyl-3-heptanone HCl	1095-90-5						
NC67	Dimethylformamide	68-12-2	-	-	-	[156]		
NC68	Dimethyl terephthalate	120-61-6	-	-	-	[34]		
NC69	Dioxathion [AKA phosphorodithioic acid, S,S'-p-dioxane-2,3-diy-O,O',O',O'-tetraethyl ester]	78-34-2	+	-				
NC70	Diphenhydramine HCl	147-24-0	-	+				
NC71	Diphenyl-p-phenylenediamine	74-31-7	+	+				
NC72	2,5-Dithiobiurea	142-46-1	-	-				
NC73	EDTA, trisodium salt trihydrate	150-38-9	-	-	- b	[55]		
NC74	Endrin	72-20-8	-	-				
NC75	Ephedrine sulphate	134-72-5	-	-				
NC76	Erythorbate, sodium	6381-77-7	-	-				

ID	Chemical	CAS No.	Amees	<i>in vitro</i> CA	<i>in vivo</i> MN	<i>in vivo</i> MN Ref.	TGR	TGR Ref.
NC77	Erythromycin stearate	643-22-1	-	-				
NC78	Estazolam	29975-16-4						
NC79	p,p-Ethy-DDD [AKA perthane]	72-56-0	+	-				
NC80	Ethyl tellurac	20941-65-5	-	+				
NC81	Etodolac	41340-25-4	-	-				
NC82	Eugenol	97-53-0	-	+	-	[34]	-	[16]
NC83	FD & C green no. 3 [AKA C.I. Food green 3]	2353-45-9	-	TC	E	[33]		
NC84	FD & C red no. 3 [AKA fluorescein, 2', 4', 5', 7'-tetralodo, disodium salt]	16423-68-0	-	+	E	[33]		
NC85	FD & C yellow no. 5 [AKA tartrazine]	1934-21-0	-	+				
NC86	FD & C yellow no. 6 [AKA Food yellow 3]	2783-94-0	-	-	-	[34]		
NC87	Fenaminosulf, formulated [AKA p-dimethylaminobenzenediazo sulphonic acid,	140-56-7	+	-				
NC88	Fenthion	55-38-9	E	+				
NC89	Fenvalerate [AKA cyano-3-phenoxyphenylmethyl-4-chloro-alpha-1-methylethylbenzene acetate]	51630-58-1	-	+	+	[33]		
NC90	Fluometuron [AKA urea, 1,1-dimethyl 3-(alpha, alpha, alpha-trifluoro-m-tolyl)-]	2164-17-2	-	-	-	[157]		
NC91	Fluoride, sodium	7681-49-4	-	+	E	+ [33]; - [50, 57, 58]		
NC92	Gemfibrozil	25812-30-0						
NC93	Guar gum	9000-30-0	-					
NC94	Gum arabic	9000-01-5	-					
NC95	HC blue no. 2 [AKA ethanol, 2,2'((4-(2-hydroxyethylamino)-3-nitrophenyl)imino)di-]	33229-34-4	+	-	-	[105]		
NC96	HC yellow 4	59820-43-8	+	-				
NC97	Hexachlorocyclopentadiene	77-47-4	-	+	-	[36]		
NC98	Hexachlorophene	70-30-4	-					
NC99	Hexamethylenetetramine	100-97-0	+					
NC100	4-Hexylresorcinol	136-77-6	-	-	-	[50]		
NC101	Hydrochlorothiazide	58-93-5	-	-				
NC102	8-Hydroxyquinoline [AKA 8-quinolinol]	148-24-3	+	+	-	[34]		
NC103	Iodoform [AKA methane, triiodo-]	75-47-8	+	-				
NC104	Isopropyl-N-(3-chlorophenyl)carbamate	101-21-3	-	E	-	[147]		
NC105	4,4'-Isopropylidenediphenol	80-05-7	-	+	-	[158]		
NC106	Lead dimethyldithiocarbamate	19010-66-3	+	+				
NC107	Levobunolol HCl	27912-14-7						
NC108	Lithocholic acid	434-13-9	-	+				
NC109	Locust bean gum	9000-40-2	-					
NC110	Malaoxon	1634-78-2	-	E				
NC111	Malathion	121-75-5	-	+	+	[33]		
NC112	Maleic hydrazide	123-33-1	-	E	-	[159]		
NC113	Manganese (II) sulfate monohydrate	10034-96-5	+	+	+	[33]		
NC114	d-Mannitol	69-65-8	-	-	-	[34]		
NC115	Methotrexate	59-05-2	-	+	+	[33, 122]		

ID	Chemical	CAS No.	Ames	<i>in vitro</i> CA	<i>in vivo</i> MN	<i>in vivo</i> MN Ref.	TGR	TGR Ref.
NC116	Methoxychlor	72-43-5	-	-				
NC117	alpha-Methylidopa sesquihydrate	41372-08-1	-					
NC118	Methyl methacrylate	80-62-6	-	+	-	[160]		
NC119	Methyl parathion [AKA phosphorothioic acid, O, O-dimethyl O-(p-nitrophenyl)ester]	298-00-0	+	-	+	[33]		
NC120	Monochloroacetic acid	79-11-8	-	-	+	[161]		
NC121	N-(1-Naphthyl)ethylenediamine 2HCl [AKA PL-89779]	1465-25-4	+	+				
NC122	Nickel (II) sulfate hexahydrate	10101-97-0	-	+	-	[11]		
NC123	p-Nitroaniline	100-01-6	+	+				
NC124	4-Nitroanthranilic acid	619-17-0	+	-*				
NC125	3-Nitro-4-hydroxyphenylarsonic acid (AKA roxarsone)	121-19-7	-	-				
NC126	1-Nitronaphthalene	86-57-7	+	+			-	[16]-
NC127	4-Nitro-o-phenylenediamine	99-56-9	+	+	-	[162]		
NC128	3-Nitropropionic acid	504-88-1	+	E				
NC129	Omeprazole	73590-58-6	-		E	[33]		
NC130	gamma-Oryzanol	11042-64-1	-					
NC131	Oxamyl	23135-22-0	-					
NC132	Oxprenolol HCl	6452-73-9	-		E	[33]		
NC133	Oxytetracycline HCl	2058-46-0	-	-	+	[163]		
NC134	Parathion	56-38-2	-	-	-	[110]		
NC135	Penicillin VK	132-98-9	-	+	-	[164]		
NC136	Pentaerythritol tetranitrate with 80% d-lactose monohydrate	78-11-5	-	-				
NC137	Phenformin HCl	834-28-6	-	-				
NC138	Phenol	108-95-2	-	+	+ c	[43, 59]		
NC139	p-Phenylenediamine 2HCl	624-18-0	+	+	-	[162]		
NC140	Phenylephrine HCl	61-76-7	-	-	-	[50]		
NC141	1-Phenyl-3-methyl-5-pyrazolone	89-25-8	-	-				
NC142	Phenyl-beta-naphthylamine [AKA N-phenyl-2-naphthylamine]	135-88-6	-	E				
NC143	N-Phenyl-p-phenylenediamine HCl [AKA C.I. Oxidation base 2A]	2198-59-5	-					
NC144	1-Phenyl-2-thiourea	103-85-5	-	-*				
NC145	Phthalamide	88-96-0	-	-				
NC146	Phthalic anhydride	85-44-9	-	+				
NC147	Picloram, technical grade	1918-02-1	-	TC				
NC148	Polysorbate 80	9005-65-6	-	TC				
NC149	Promethazine HCl	58-33-3	-	-				
NC150	Propylene [AKA propene]	115-07-1	+		-	[165]		
NC151	Propyl gallate	121-79-9	-	+	+	[33]	-	[40]
NC152	Resorcinol	108-46-3	-	-*	+	[50]		
NC153	Rhodamine 6G [AKA basic red 1]	989-38-8	-	TC				
NC154	Rotenone	83-79-4	-	-	-	[166]		

ID	Chemical	CAS No.	Ames	<i>in vitro</i> CA	<i>in vivo</i> MN	<i>in vivo</i> MN Ref.	TGR	TGR Ref.
NC155	Sodium chlorite	7758-19-2	+	+	+	[33]		
NC156	Sodium diethyldithiocarbamate trihydrate [AKA carbamic acid, diethyldithio, sodium salt]	148-18-5	-	-				
NC157	Sodium hypochlorite	7681-52-9	-	E	-	[81]		
NC158	Sorbic acid	110-44-1	-	TC	-	[167]		
NC159	Sotalol HCl	959-24-0						
NC160	Sulfisoxazole	127-69-5	-	-	-	[34]		
NC161	3-Sulfolene	77-79-2	-	-				
NC162	Tara gum	39300-88-4	-					
NC163	2,3,5,6-Tetrachloro-4-nitroanisole	2438-88-2	-	E				
NC164	Tetracycline HCl	64-75-5	-	+				
NC165	Tetraethylthiuram disulfide [AKA disulfide, bis(diethylthiocarbamoyl)]	97-77-8	-	+				
NC166	1-trans-delta-9-Tetrahydrocannabinol	1972-08-3	-		+	[33]		
NC167	Tetrakis(hydroxymethyl)phosphonium chloride	124-64-1	-	+	-	[50]		
NC168	Tetrakis(hydroxymethyl)phosphonium sulfate	55566-30-8	-	+	-	[168]		
NC169	Tetramethylthiuram disulfide	137-26-8	+		+	[33]		
NC170	4,4-Thiobis(6-tert-butyl-m-cresol) [AKA santonox-R]	96-69-5	-	-				
NC171	Tin (II) chloride	7772-99-8	-	+	-	[33, 34]		
NC172	Tolazamide	1156-19-0	E	TC				
NC173	Tolbutamide	64-77-7	-	-	+	[33]		
NC174	1,1,1-Trichloroethane, technical grade	71-65-6	-	E	-	[50]		
NC175	Trichlorofluoromethane	75-69-4	-					
NC176	2,4,5-Trichlorophenoxyacetic acid	93-76-5	-		-	[33]~		
NC177	Tricresyl phosphate	1330-78-5	-	-				
NC178	Triphenyltin hydroxide	76-87-9	-	-	+	[169]		
NC179	Triprolidine HCl monohydrate	6138-79-0	-					
NC180	L-Tryptophan	73-22-3	-	-				
NC181	Turmeric oleoresin (79%-85% curcumin)	8024-37-1	-	E				
NC182	Urea	57-13-6	-	TC				
NC183	Vinyl toluene (65-71% m- and 32-35% p-) [AKA benzene,ethenylmethyl-]	25013-15-4	-	+	+	[33]		
	For explanation of the <i>in vitro</i> results, <i>in vivo</i> MN and TGR results and other symbols see footnotes to Appendix 1.							
	a, as free base (300-62-9);							
	b, as disodium salt;							
	c, maybe due to hypothermia;							

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Barber C, Amberg A, Custer L, Dobo KL, Glowienke S, Van Gompel J, Gutsell S, Harvey J, Honma M, Kenyon MO, Kruhlak N, Muster W, Stavitskaya L, Teasdale A, Vessey J, Wichard J	Establishing best practise in the application of expert review of mutagenicity under ICH M7.	Regul Toxicol Pharmacol.	73	367 - 377	2015
Petko IP, Patlewicz G, Terry, Schultz W, Honma M, Todorov M, Kotov S, Dimitrov SD, Donner M, Mekenyan OG	A feasibility study: Can information collected to classify for mutagenicity be informative in predicting carcinogenicity?	Regul Toxicol Pharmacol.	72	17-25	2015
Canipa S, Cayley A, Drewe WC, Williams RV, Hamada S, Hirose A, Honma M, Morita T	Using in vitro structural alerts for chromosome damage to predict in vivo activity and direct future testing.	Mutagenesis	31	17 - 25	2015
Morita T, Uno Y, Honma M, Kojima H, Hayashi H, Tice RR, Corvi R, Schechtman L	The JaCVAM International Validation Study on the in vivo Comet Assay: Selection of Test Chemicals.	Mutation Research	786-788	14-44	2015
Morita T, Hamada S, Masumura K, Wakata A, Maniwa J, Takasawa H, Yasunaga K, Hashizume T, Honma M	Evaluation of the sensitivity and specificity of in vivo erythrocyte micronucleus and transgenic rodent gene mutation tests to detect rodent carcinogens.	Mutation Research	802	1-29	2016
森田 健	LD50値による毒性評価手法の変遷	中毒研究	28	388-391	2015
Okamura H, Abe H, Hasegawa-Baba H, Saito K, Sekiya F, Hayashi S, Mirokuji Y, Maruyama S, Ono A, Nakajima M, Degawa M, Ozawa S, Shibutani, Maitani T	The Japan Flavour and Fragrance Materials Association's (JFFMA) safety assessment of acetal food flavouring substances uniquely used in Japan.	Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess	32	1384-1396	2015
Igarashi Y, Nakatsu N, Yamashita T, Ono A, Ohno Y, Urushidani T, and Yamada H	Open TG-GATEs: a large-scale toxicogenomics database.	Nucleic Acids Res	43(Database issue)	D921-D927	2015

Hirata-Koizumi M, Fujii S, Kato H, Matsumoto M, Takahashi M, Ono A, Hirose A	Repeated dose and reproductive/developmental toxicity of long-chain perfluoroalkyl carboxylic acids in rats: perfluorohexadecanoic acid and perfluorotetradecanoic acid.	Fundam. Toxicol. Sci.	2	177-190	2015
Ono A, Kobayashi K, Serizawa H, Kawamura T, Kato H, Matsumoto M, Takahashi M, Hirata-Koizumi M, Matsushima Y, Hirose A	A repeated dose 28-day oral toxicity study of β -bromostyrene in rats.	Fundam. Toxicol. Sci.	2	191 - 200	2015
松本真理子、清水将史、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6回化学物質共同評価会議概要	化学生物総合管理	11	37 - 45	2015