

研究課題名：

In silico 予測手法の高度化と New Approach Methodology の活用に基づく化学物質の統合的
ヒト健康リスク評価系の基盤構築に関する研究

分担研究報告書

代謝予測に基づく反復投与毒性リードアクロスモデルの高度化に関する研究

研究分担者	山田 隆志	国立医薬品食品衛生研究所	安全性予測評価部	室長
研究協力者	齊藤 亮子	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	丸山 多恵子	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	山添 康	国立医薬品食品衛生研究所	安全性予測評価部	客員研究員
研究協力者	頭金 正博	名古屋市立大学大学院薬学研究科	レギュトリーサイエンス分野	教授

研究要旨

反復投与毒性は、化学物質安全性評価における主要な毒性エンドポイントである。リードアクロスの適用においては、構造類似性と生物学的類似性に基づき、評価対象物質と試験済みの類似物質をグループ化することが必要であるが、毒性機序の情報が限られている場合が多く、適用範囲の拡大は容易ではない。一方で、代謝を受けて共通あるいは極めて類似する毒性物質へ変換するケースのように、代謝の類似性に基づくグループ化は、複雑な全身毒性の予測に対して実際的なアプローチとして期待される。本分担研究では、昨年度に引続き、反復投与毒性を対象としたリードアクロス手法の適用拡大を目指して、代謝予測の信頼性を評価する方法と代謝の類似性に基づいたリードアクロスによる毒性予測を事例研究により検討した。評価対象物質の類似物質の実測代謝を予測できるかを確認することにより、毒性データがない対象物質の信頼性の高い代謝予測とそれに基づくグループ化およびリードアクロスが可能であることを実証した。他の物質への適用は十分可能であり、規制安全性評価への実装へ向けて実用的なアプローチとなりうると考えられた。

A. 研究目的

反復投与毒性は、化学物質安全性評価における主要な毒性エンドポイントのひとつである。市場に流通する多数の未評価の化学物質について、その毒性評価を加速化させることが求められている。一方で、動物福

祉は国際的に大きな流れとなっており、段階的な動物試験の削減は不可避の情勢となっている。そこで代替アプローチの開発と、予測の不確実性を考慮した評価方法の確立およびその適用範囲の拡大が求められている。

反復投与毒性のような複雑な毒性エンドポイントの予測については、単一の QSAR の適用は困難であり、OECD や欧米の規制行政機関では、試験と評価のための統合的アプローチ (IATA) の開発が進められている。New Approach Methodology (NAM) は、有害性評価の文脈において、toxicokinetics や toxicodynamics を包含する動物を用いない *in silico*, *in vitro* 等のアプローチを意味し、それらを統合して利用することにより、ヒト健康リスク評価の信頼性を向上させると期待されている。

我々は、上記の国際動向を見据えつつ、反復投与毒性の信頼性が高い予測方法の開発と実用化を目指している。これまで、化学物質の毒性情報を網羅的かつ容易に検索し解析することができるようにするため、国内外で公開されている毒性試験データを可能な限り統合してデータベース化し、NIHS 統合 DB を構築した。そして、IATA に基づくリードアクロスの適用範囲の拡大を目指して、有害性発現経路 (AOP) に基づくカテゴリーの構築に取り組み、その成果を積み重ねてきた。

反復投与毒性のデータギャップ補完へのリードアクロスの適用には、化学的類似性と生物学的類似性に基づき、評価対象物質と試験済みの類似物質をグループ化することが必要であるが、鍵となる毒性メカニズムの情報は限られている場合が多く、今なお適用範囲の拡大は容易ではない。その一方で、評価対象物質が代謝を受けて共通の構造あるいは構造が極めて類似する物質へ変換されるケースのように、代謝の類似性にもとづくグループ化は、特に化学物質の反復投与毒性の予測に対して実際的なアプ

ローチであると考えられ、その適用範囲の拡大が期待される。そのためには、信頼性の高い代謝予測と代謝の類似性評価の方法の確立が求められる。

最近では、さまざまな代謝予測モデルが開発されており、また実際の代謝物に関する実測データの蓄積が進められている。一方で、代謝予測モデルは多数の予測代謝物構造を提示し、その後の判断はユーザーに委ねられる。また、予測モデルには、予測性が高い領域と低い領域が混在していると考えられる。そこで、本研究では、代謝予測の結果の信頼性を評価する方法を検討し、その結果を海外機関で検討中のリードアクロスの標準化ワークフローに従って、毒性予測に適用する。以上の試行に基づき、代謝の類似性に基づく反復投与毒性のリードアクロス手法の確立と適用範囲の拡大を目指すことを目的とする。

さらに、本分担研究では、化学物質のヒトへの毒性影響を評価するために不足する情報を補う手段のひとつとして、ヒト代謝予測手法に着目し、その評価を検討した。毒性試験結果のヒトへの外挿において、評価対象物質の代謝情報は重要である。しかし、化学物質について、ヒトの代謝情報はほとんど利用できない。そこで、化学物質の Phase I 代謝に関わるシトクロム P450 (P450) について、どのような代謝予測モデルが利用可能であるか、さらにその予測精度ならびに利用にあたっての留意点を整理することにした。ヒト P450 代謝予測モデルについて高精度で化学物質代謝を予測できる領域を精査し、ヒト健康リスク評価への適用可能性について検討する。

B. 研究方法

B.1. 代謝物予測に基づく毒性予測

代謝物が毒性発現に関与すると考えられる化学物質のグループにおいて、*in vivo* 毒性試験データおよび *in vivo* あるいは *in vitro* 代謝試験データを用いて、*in silico* 代謝物予測の妥当性を検証した。さらに、これらのデータが利用できないか一部が欠損している類縁物質について、代謝予測ツールを用いて予測される代謝物にもとづいて毒性の予測を行った。

In vivo 毒性データは NIHS 統合 DB の反復毒性試験結果から収集し、*in vivo* あるいは *in vitro* 代謝実験データは HESS (Hazard Evaluation Support System ver.4.2)、OECD QSAR Toolbox (QSAR Toolbox) (ver.4.5)、PubChem (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>) を用いて収集した。毒性が既知の物質については、その内容を精査し、化審法スクリーニング評価の有害性クラス (CSCL Hazard Class) に割り当てた。

今年度検討した物質は、塩素原子数の異なるクロロエタン類である。肝臓において脱ハロゲン化代謝の結果、ラジカルを生成して周囲の細胞に傷害を引き起こす、GSH 抱合を介して毒性を引き起こす機序等が想定され、正確な代謝予測が信頼性の高い毒性予測の鍵になる。また、一方で速やかな呼吸排出の結果、低毒性を示す物質があることも想定され、体内動態の観点からも類似性を評価することが求められる。

In silico 代謝予測は、Lhasa 社の NEXUS Meteor (v.3.1.0) と、MetaQSAR の代謝情報をもとに代謝物を予測する GLORYx (ver.1.0)を用いて行った。両ツールは、Phase I および Phase II 代謝物を予測する。前者は、

OECD IATA Case Studies Project での毒性予測の事例研究においてよく用いられており、後者はその前身の GLORY とともに、創薬分野で近年よく使用されているとされる。さらに、ヒューリスティック型の TIMES (ver. 2.31.2) も用いた。

類似の代謝と毒性メカニズムを有すると考えられる未評価の物質について、化学構造と *in silico* 代謝予測データにもとづいて、適切な類似物質を選定して正当化し、リードアクロスにより毒性影響と NOAEL または LOAEL を推定し、不確実係数で除して有害性評価値を導出し、CSCL Hazard Class を割り当てた。

B.2. 既存代謝情報の収集と一元化

HESS および QSAR Toolbox から代謝情報が記載されている物質とその実測代謝物の SMILES 情報を抽出した。さらに、PubChem Classification Browser の Metabolism/Metabolites から代謝情報の記載がある化学物質の情報をダウンロードした。各物質の PubChem CID と Canonical SMILES を収集し、QSAR Toolbox を用いて CAS 番号を取得した。これらの情報を、NIHS 統合 DB に記載されている化学物質と CAS 番号を元に紐付けを行った。

B.3. ヒト P450 基質テンプレートモデルによる代謝予測のプロトコールの詳細化

ヒト P450 基質テンプレートモデルの汎用化を目指して、CYP3A4 を対象に、その基質を Yamazoe らの下記 5 論文 (Yamazoe et al., Food Safety, 9, 10-21, 2021., Yamazoe et al., Food Safety, 8, 34-51, 2021., Yamazoe et al., Drug Metab Pharmacokinet., 35, 253 - 265,

2020., Yamazoe et al., Drug Metab Pharmacokinet., 34, 113-125, 2019., Goto et al., Drug Metab Pharmacokinet., 34, 351-364, 2019) から選択し、その化学構造を Mac 版 Chem3D で作成した。本モデルの開発者である Yamazoe から、テンプレート当てはめの方法や規則の説明を受けた後に、ChemDraw 上で基質テンプレートへの当てはめを実施した。各々の基質について、基質挿入部位の立体的制限および基質テンプレートとの相互作用等の観点から、基質になる配置と基質にならない配置を確認した。

(倫理面への配慮) 本研究は動物を用いた研究を行わないため対象外である。

C. 結果

C.1. 代謝物予測に基づく反復投与毒性予測

反復投与毒性予測の評価対象物質は、2つ以上の塩素原子を持つクロロエタン類のうち、NIHS 統合 DB および ECHA REACH のデータベース検索の結果、反復投与毒性試験の結果が見つけられなかった 1,1,1,2,2-pentachloroethane (CAS: 76-01-7: member 1)、1,1-dichloroethane (CAS: 75-34-3: member 2)、1,1,1,2-tetrachloroethane (CAS: 630-20-6: member 3) および 1,1,2-trichloroethane (CAS: 79-00-5: member 4) である。化審法スクリーニング評価を想定して、リードアクロスにより反復投与毒性の主要な毒性影響と毒性レベルを予測し、CSCL Hazard Class の分類を行う [ステップ 1: 課題設定]。

評価対象物質とその類似物質(2つ以上の塩素原子を持つクロロエタン類で毒性既知物質)について、その化学構造、物理化学性

状 (log P、ヘンリー定数、血液-空気分配係数)、代謝情報、想定機序情報を収集した[ステップ 2: データギャップ分析]。

2~6 個の塩素原子をもつエタン類を NIHS 統合 DB 中で検索した結果、4 物質 (member 5-8) が確認された (表 1) [ステップ 3: 類似物質の同定]。

Member 5, 6, 8 は肝毒性影響が、Member 7 は血液毒性影響が LOAEL の根拠となる leading effect であった。

クロロエタン類は P450 による還元的脱ハロゲン化によって炭素原子に置換した 1 個のハロゲン原子が失われ、反応性が高い炭素ラジカルが生成するか、酸化的脱ハロゲン化を介して求電子性の酸クロリドを形成することによって、肝細胞内のタンパク質等の生体高分子と付加体を形成し、肝障害が引き起こされることが提唱されている。また、GSH 抱合の進行に伴う GSH の枯渇による酸化ストレスの誘導と一部の GSH 抱合体が反応性の高い代謝物へ変換されることも毒性発現に至る可能性がある。一方、メチル水酸化は毒性を低減させる反応であると考えられる。

Member 5-8 について、既知の代謝物構造を Meteor および GLORYx により得られた予測代謝物構造と比較したところ、Meteor は精度よく代謝を予測した (表 1)。よって、このグループの物質の代謝予測には、Meteor の予測結果を活用することが妥当と考えられた。

評価対象物質 member 1 は、還元的脱ハロゲン化代謝が予測された。この反応の中間段階では反応性が高い炭素ラジカルが生成すると考えられ、したがって、強い肝毒性が懸念される。構造、物理化学的性状、本代謝

反応の類似性から、member 5 および member 6 が類似物質として同定された。[ステップ 4：類似物質の評価 (member 1)]

評価対象物質 member 2 は、酸化的脱ハロゲン化代謝が予測された。しかし、本物質と構造、物理化学的性状、想定される代謝が類似すると考えられた member 7 は代謝が排泄に果たす役割は小さく、大部分が代謝を受けずに呼気から排泄され、血中半減期は短いことが報告されている。この体内動態の特徴は、本物質が他の多くのクロロエタン類と比べてヘンリー定数が大きく、血液-空気分配係数が小さいことによって支持される。したがって、高曝露において血球への毒性影響が懸念される。構造、物理化学的性状の類似性が血液毒性に与える影響が大きいとの仮説に基づき、評価対象物質 member 2 の類似物質として member 7 を選択した。[ステップ 4：類似物質の評価 (member 2)]

評価対象物質 member 3 および member 4 は、物理化学的性質は member 5 および member 8 と類似しているが、代謝の点では還元的脱ハロゲン化反応と酸化的脱ハロゲン反応が起きると予測され、member 5 が類似していた。しかし、member 3 および member 4 が分子内にもつメチレン基は水酸化など別の代謝反応を受ける可能性がある。スクリーニングレベルでの評価であることを鑑み、安全サイドに立って代謝活性化が毒性発現に寄与するとの仮説に基づき、member 5 を類似物質として選択した。[ステップ 4：類似物質の評価 (member 3 および member 4)]

Member 1 の類似物質として同定された member 5 および member 6 の主要な毒性は双方とも肝臓への影響(肝重量増加、肝細胞

壊死)であった。スクリーニング評価であることを踏まえて、LOAEL 値の低い member 5 のエンドポイントデータを用いてリードアクロスし、分子量の違いを考慮して、13 週間反復投与毒性試験の主要な毒性は肝毒性であり、LOAEL 値は 23.4 mg/kg/d と推定された。有害性評価値は不確実性係数 2000 (LOAEL 使用、慢性曝露への外挿、ヒトへの外挿) で除して 0.0117 と算出され、CSCL Hazard Class は” class 3” が割り当てられた。[ステップ 5：データギャップ補完 (member 1)]

Member 2 の類似物質として同定された member 7 は血球への影響(ヘマトクリットの減少)が主要な毒性影響であった。よって、13 週間反復投与毒性試験のその毒性影響と NOAEL 値をリードアクロスして member 2 の主要な毒性は血液毒性であり、NOAEL は 215 mg/kg/d と推定された。有害性評価値は不確実性係数 200(慢性曝露への外挿、ヒトへの外挿) で除して 1.45 と算出され、CSCL Hazard Class は” out of class” が割り当てられた [ステップ 5:データギャップ補完 (member 2)]

Member 3 および member 4 の類似物質として同定された member 5 の主要な毒性(肝重量増加、肝細胞壊死) および 13 週間反復投与毒性試験の LOAEL 値をリードアクロスして member 3 の LOAEL は 20 mg/kg/d と推定された。有害性評価値は不確実性係数 2000 (LOAEL 使用、慢性曝露への外挿、ヒトへの外挿) で除して 0.01 と算出され、CSCL Hazard Class は” class 3” が割り当てられた。また同様に、分子量の違いを考慮しつつリードアクロスして、member 4 の LOAEL 値は 15.9 mg/kg/d と推定された。有

害性評価値は 0.008 であり、CSCL Hazard Class は” class 3” が割り当てられた。[ステップ 5: データギャップ補完 (member 3 および member 4)]

Member 1 は member 5 と代謝プロファイルにおいて類似しているが、肝臓での反応性代謝物の生成速度や反応性レベルなどの定量的情報の不足に由来する不確実性が存在する。しかし、類似物質 member 5 は、有害性クラス 3、もうひとつの類似物質として同定された member 6 はクラス 4、さらに member 8 もクラス 3 であり、member 1 がこれらより毒性が強いエビデンスはないことから、毒性は過小評価されていないと考えられ、その不確実性は許容される。[ステップ 6: 不確実性評価 (member 1)]。

評価対象物質 member 2 は、分子内にメチル基を持ち、トポロジカルな点で member 5 と構造が類似している。さらに、血液空気分配係数の類似性から呼気への排出が優先的であると考えられるが、半減期などの体内動態に関して予測は実施されず、定量的情報の不足による不確実性があるが、PubChem 検索により得られたキネティクスの実測値より呼気排出の程度は同程度と推察されることから、その不確実性は許容される[ステップ 6: 不確実性評価 (member 2)]。

評価対象物質 member 3 は member 5 の構造異性体であるが、塩素原子の置換部位の違いが代謝活性化にどの程度影響を与えるか不確実性が残る。ただし、member 3 は片方の炭素原子に塩素が 1 つしかついていないため、この原子は比較的無害なメチル水酸化による代謝を受けやすいと考えられる。したがって、member 5 からのリードアクロス予測に基づく member 3 の有害性クラス

分類は過小評価していないと考えられる。しかし、毒性予測の不確実性の低減のためには member 3 と member 5 の肝代謝活性化に関連して、定量的に比較できる情報が求められる [ステップ 6: 不確実性評価 (member 3)]。

評価対象物質 member 4 は、member 5 と比較して塩素原子が 1 つ少ない構造をしており、塩素原子置換数の点から member 5 と member 8 の中間の構造を持つ。Member 8 は GSH 抱合する点で member 5 と代謝が大きく異なる。構造のわずかな違いが代謝プロファイルに大きな影響を与える可能性があり、member 4 の代謝予測は不確実性が評価対象物質の中で最も大きい。しかし、炭素原子に塩素が 1 つしかついていないため、原子は比較的無害なメチル水酸化による代謝を受ける可能性があると考えられる。Member 5 および member 8 はいずれも”Class 3”であり、いずれの物質の試験データからのリードアクロス予測であっても、member 4 の有害性クラス分類は過小評価していないと考えられる。しかし、肝代謝活性化に関連して、反応性代謝物のより精度の高い予測と、定量的に比較できる情報が求められる。[ステップ 6: 不確実性評価 (member 4)]。

C.2 既存代謝情報の収集

HESS からは、1,199 物質を親物質とする代謝マップ情報が得られた。PubChem からは、10,053 物質 (CID ベース) について、代謝または代謝産物の情報が得られた。この物質リストを化学物質の情報が収載されている QSAR Toolbox と照合することで、CAS ベースで 4,092 の化学物質のリストを得た。

次に、収集した代謝データを NIHS 統合

DB に登録されている反復投与毒性試験データと紐づけを行った。試験データの質にばらつきがある COSMOS の毒性データを除いて照合したところ、1,967 物質のうち、613 物質は HESS 由来の代謝マップを利用できた。また、906 物質は PubChem 由来の代謝情報が得られた。

C.3. ヒト P450 基質テンプレートモデルの汎用性向上

ヒトの CYP3A4 の基質の化学構造を Mac 版 Chem3D で作成した。テンプレートへの当てはめが比較的容易であると考えられた多環芳香族炭化水素やステロイド等の平面構造を取る物質を対象とした (Androstenedione, Benzopyrene, Chrysene, Finasteride, Nitropyrene, Phenanthrene, Progesterone, Pregnenolone, Pyrene, Reactive blue 19, Testosterone)。各々の基質について、基質挿入部位の立体的制限および基質テンプレートとの相互作用等の観点から、基質になる配置とならない配置を確認した。

その結果に基づき、基質テンプレートへの当てはめによる代謝部位予測のプロトコールの詳細化を図るため、化学物質の構造情報取得方法、Mac 版 Chem 3D の操作方法、化学物質の動かし方、テンプレートへの当てはめについて注意点を抽出し、とりまとめた。

基質テンプレートを用いた代謝部位予測の実施として、25 物質に対して CYP3A4 の基質テンプレートへの当てはめを行い、基質になると考えられる配置、または基質にならない配置を作成し、予測結果を ChemDraw ファイル、PNG ファイルとして保存した。

基質全体のサイズが小さい場合は、テンプレート内に 2 分子入ると考えられることから、1 分子基質のテンプレート当てはめのルールに適合しない場合が多く、基質となるか否かの判断が困難であった。詳細なルール構築が必要と考えられた。

D. 考察

本研究では、代謝予測に対して知識ベースの Meteor、機械学習統計モデルの GLORYx を選択した。予測代謝物をスコアとともに提示するが、その確からしさの検証結果はない。代謝予測モデルが提示する複数の代謝物候補について、どのように取捨選択していくかについて、確立した方法はない。学習データセットが公開されていないモデルでは、モデルの適用範囲が不明であり、外部検証は難しい。さらに、予測モデルには、予測性の高い領域と低い領域があると考えられる。このような予測の不確実性を把握し、代謝予測の結果の信頼性をどのように評価するかが課題である。

OECD QSAR Assessment Framework プロジェクトでは、化学物質の規制安全性評価のエンドポイントについて、*in silico* モデルによる予測結果の信頼性を評価する方法の原則を取りまとめているところであり、本研究では代謝予測に対してその最新動向を反映させた。すなわち、評価対象物質の類似物質について、実測の代謝を予測モデルが正しく予測できるかを確認することにより、ローカルな領域に限定して代謝予測結果の信頼性を評価することができると考えた。

適切なモデルの信頼できる予測結果に基づき、代謝の類似性から評価対象物質と試験済み類似物質をグループ化した。このよ

うなアプローチを導入することにより、リードアクロスのための類似物質の選択の正当化、不確実性の低減化に寄与すると考えられる。

次年度は、本アプローチを他のカテゴリー物質、特に低毒性が予測される物質群へ拡大適用することを検討する。反復投与毒性は、構造アラートや AOP の整理は未だ十分でない。したがって、低毒性の予測には、速やかに代謝分解され排出されるなど、低毒性となる理由を正当化することが有効である。試行を重ねて、このアプローチの妥当性と留意点をまとめる。

このアプローチの実行を効率化し、適用範囲を拡大するためには、実測の代謝データベースの充実が必要である。本分担研究では、化学物質の代謝情報を公的データベースから網羅的に収集し、NIHS 統合 DB とリンクさせ、一元化を図っている。

さらに本分担研究では、昨年度に精度評価したヒト P450 代謝予測モデルのうち、もっとも予測精度が優れていた Yamazoe の P450 基質テンプレートモデルについて、プロトコルの詳細化を図った。今後は複数のユーザーが基質テンプレートへの当てはめを実施できるかを検証することが必要である。そして、基質の当てはめの結果について、テンプレート開発者への確認を実施し、フィードバックすることでプロトコルのさらなる改良を行う必要がある。

また、Yamazoe による P450 基質テンプレートモデルは、代謝部位および代謝物の予測性は優れるが、対象物質が基質とならないという結果を予測することは難しい。したがって、その使用場面として、他の P450 代謝予測モデル（基質が代謝されるか否か

を判別するモデル）と組み合わせることで、代謝される可能性が高い物質を選定し、続いて P450 基質テンプレートに当てはめ、どの部位が代謝されるかを予測する等、段階的な代謝予測フローの検討が必要であると考えられる。

E. 結論

本研究では、反復投与毒性を対象に、リードアクロスアプローチの適用拡大を目指して、代謝予測の信頼性を評価する方法と代謝の類似性に基づく毒性予測を事例研究により検討した。評価対象物質の類似物質の実測代謝を予測できるかを確認することにより、対象物質について信頼性の高い代謝予測とそれに基づくグループ化とリードアクロスが可能であることを実証した。さらなる事例の積み重ねは必要であるが、他の物質への適用は十分可能であり、規制安全性評価への実装へ向けて有用である。

F. 研究発表

F.1. 論文発表

1. Murayama N, Yamada T, Yamazoe Y. Application of CYP1A2-Template system to understand metabolic processes in the safety assessment. *Food Safety*, 2022, 10, 129-139.
2. Yamada T, Kawamura T, Tsujii S, Miura M, Ohata H, Katsutani K, Matsumoto M, Hirose A. Formation and evaluation of mechanism-based chemical categories for regulatory read-across assessment of repeated-dose toxicity: a case of hemolytic anemia. *Regul. Toxicol. Pharmacol.*; 2022, 136: 105275.

3. Yamada T, Katsutani K, Maruyama T, Kawamura T, Yamazaki H, Murayama N, Tong W, Yamazoe Y, Hirose A, Combined risk assessment of food-derived coumarin with *in silico* approaches. *Food Safety*. 2022, 10, 73-82.
 4. 山田 隆志 : Cefic LRI/ILSI Europe Joint Workshop での Carcinogen Dose Response Database for Threshold of Toxicological Concern (TTC) の概要ならびに TTC に関する近年の国際動向. *イルシー*. 2022; 150: 4-12.
 5. Murata Y, Umano T, Iso T, Shigeta Y, Hirose N, Inoue K, Yamada T, Masumura K, Matsumoto M. Summary information of human health hazard assessment of existing chemical substances (VIII) *Bull. Natl. Inst. Health Sci.*, 140, 54-60, 2022
- F.2 学会発表
1. Yamada T, Meiseki Y, Watanabe-Matsumoto S, Yamamoto S, Katsutani N, Yoshida K, Constructing a database of parameters for physiologically based kinetic modeling to predict toxicokinetics of inhalation exposure to industrial chemicals, Society of Toxicology 62nd Annual Meeting (2023.3.21, Nashville)
 2. 山田 隆志 : 次世代リスクアセスメント (NGRA) のケーススタディの開発と行政受入へ向けた考慮事項, 日本動物実験代替法学会第 35 回大会 (2022.11.20, 静岡)
 3. 山田 隆志, 辻井 伸治, 三浦 稔, 齊藤亮子, 川村 智子, 丸山 多恵子, 勝谷成男, 広瀬 明彦 : IATA による化学物質の神経毒性評価を補完する *in silico* アプローチ : 神経毒性に関連する部分構造と物理化学的および生化学的パラメータを用いたカテゴリーの精緻化, 日本動物実験代替法学会第 35 回大会 (2022.11.19, 静岡)
 4. Yamada T, Tsujii S, Miura M, Saito A, Kawamura T, Maruyama T, Katsutani N, Hirose A, *In silico* approach that supports neurotoxicity assessment of chemical substances by IATA: Refining categories by using substructures and physicochemical and biochemical parameters related to neurotoxicity, 11th Annual Meeting of the American Society for Cellular and Computational Toxicology (2022.10.20, Chapel Hill)
 5. 山田 隆志 : ヒト用医薬品の環境リスク評価を支援する生態毒性データベースと予測の不確実性を考慮した *in silico* アプローチの開発, 第 49 回日本毒性学会学術年会 (2022.7.2, 札幌)
 6. 山田 隆志, 勝谷 成男, 丸山 多恵子, 村山 典恵, 山崎 浩史, 山添 康, 広瀬 明彦 : ピロリジジナルカロイドの肝毒性評価への New Approach Method (NAM) の適用, 第 49 回日本毒性学会学術年会 (2022.7.1, 札幌)
 7. 勝谷 成男, 山田 隆志, 村山 典恵, 山崎 浩史, 山添 康, 広瀬 明彦 : 食品中に含まれるクマリンの肝毒性リスク評価についての *in silico* アプローチ, 第 49 回日本毒性学会学術年会 (2022.6.30, 札幌)
- F.3 シンポジウム/講習会/Work Group での

発表

1. 山田 隆志: ヒト健康影響に係る化学物質安全性データベースの開発および情報科学技術の導入によるリスク評価の迅速化へ向けた課題. 化学物質の安全管理に関するシンポジウムー Society 5.0 実現に向けた化学物質管理に係るデータ利活用の推進ー, 化学物質の安全管理に関するシンポジウム実行委員会主催, 内閣府等共催 (2022.12.21, Online)
2. Yamada T, Maruyama-Komoda T, Furuhama A. QSAR evaluation trial based on the checklist -Case study on prediction of Ames mutagenicity using two QSAR models-, OECD Meeting of the QSAR Assessment Framework Working Group (2022.11.15, Paris)
3. 山田 隆志: ヒト健康影響に関連した QSAR とリードアクロス. 令和 4 年度 QSAR/リードアクロス講習会, 独立行政法人製品評価技術基盤機構 化学物質管理センター主催, 環境省 大臣官房環境保健部後援 (2022.10.17, Online)
4. Yamada T, Read-across case studies for repeated-dose toxicity of chemicals: Lessons learned from the OECD IATA case studies project. The 9th European Food Safety Authority (EFSA) Read-across Work Group Meeting. (2022.9.28, Parma-Online Hybrid)

G.2. 実用新案登録
なし

G.3. その他
なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

G.1. 特許取得
なし

	Member 1	Member 2	Member 3	Member 4	Member 5	Member 6	Member 7	Member 8	
CAS	76-01-7	75-34-3	630-20-6	79-00-5	79-34-5	67-72-1	71-55-6	107-06-2	
Name	1,1,1,2,2-pentachloroethane	1,1-dichloroethane	1,1,1,2-tetrachloroethane	1,1,2-trichloroethane	1,1,2,2-Tetrachloroethane	Hexachloroethane	1,1,1-Trichloroethane	1,2-dichloroethane	
Chemical information									
Molecular weight	202.3	99.0	167.8	133.4	167.8	238.7	133.4	99.0	
logP (measured value)	3.2	1.8	2.8	1.9	2.4	4.1	2.5	1.5	
ACD logP (calculated value)	3.2	1.5	2.5	1.7	2.2	4.5	2.1	1.4	
Boiling Point (°C)	162.0	57.4	130.2	113.8	146.0	196.8	74.0	83.4	
Henry's Law constant	0.001900	0.005620	0.002500	0.000824	0.000420	0.003890	0.016300	0.001180	
Blood/air partition coefficient	104.0	11.2	41.7	58.0	142.0	62.7	5.8	30.4	
Toxicity information					Liver: degeneration (hepatocellular hypertrophy) (20 mg/kg/d in male and 40 mg/kg/d in female), hypotrophy (hepatocellular) (80 mg/kg/d in male and female), necrosis (hepatocellular) (170 mg/kg/d in male and 80 mg/kg/d in female), hyperplasia (bile duct), and mitotic alteration (hepatocellular) (320 mg/kg/d in male and 170 mg/kg/d in female), relative organ weight increase (40 mg/kg/d in male)	Liver: hepatocellular necrosis (375 mg/kg/d in male and 188 mg/kg/d in female), relative organ weight increase (188 mg/kg/d in male and 94 mg/kg/d in female); Kidney: hyaline droplet, tubular regeneration, and tubular casts (47 mg/kg/d in male), relative organ weight increase (84 mg/kg/d in male and 375 mg/kg/d in female); Spleen: pigmentation (40 mg/kg/d in male and 80 mg/kg/d in female) Hematology: manual Hct and PCV decrease (80 mg/kg/d in male and 40 mg/kg/d in female), High decrease (40 mg/kg/d in male and 80 mg/kg/d in female), RBC increase (170 mg/kg/d in male and 40 mg/kg/d in female), and Ret decrease (80 mg/kg/d in male and 170 mg/kg/d in female) Blood chemistry: Cho decrease (20 mg/kg/d in male and female), TP decrease (40 mg/kg/d in male and 170 mg/kg/d in female), Alb increase (170 mg/kg/d in male and 40 mg/kg/d in female), and ALT increase (80 mg/kg/d in male and female) Rats (F344/N), 20, 40, 170, 300 mg/kg/day Feeding	Liver: hepatocellular necrosis (375 mg/kg/d in male and 188 mg/kg/d in female), relative organ weight increase (188 mg/kg/d in male and 94 mg/kg/d in female); Kidney: hyaline droplet, tubular regeneration, and tubular casts (47 mg/kg/d in male), relative organ weight increase (84 mg/kg/d in male and 375 mg/kg/d in female); Spleen: pigmentation (40 mg/kg/d in male and 80 mg/kg/d in female) Hematology: Hct decrease (600 mg/kg/d in male and 300 mg/kg/d in female), Hgb and RBC decrease (4000 mg/kg/d in male and 2000 mg/kg/d in female) Thymus: relative organ weight increase (750 mg/kg/d in female) and Right testis: relative organ weight increase (750 mg/kg/d in female) Clinical observation: hyperactivity (94 mg/kg/d in male and female) and convulsions (375 mg/kg/d in male and female) Rats (F344/N), 47, 94, 188, 375, 750 mg/kg/day, 91 d, Gavage	Kidney: inflammation, chromocyst (120 mg/kg/d in male and 2000 mg/kg/d in female), renal tubule, casts, and renal tubule, degeneration, hyaline (1200 mg/kg/d in male) Liver: absolute organ weight decrease (4800 mg/kg/d in male and 5000 mg/kg/d in female) and relative organ weight decrease (3000 mg/kg/d in male) Right testis: relative organ weight increase (2400 mg/kg/d in male) Hematology: Hct decrease (600 mg/kg/d in male and 300 mg/kg/d in female), Hgb and RBC decrease (4000 mg/kg/d in male and 2000 mg/kg/d in female) Blood chemistry: CPK increase (5000 mg/kg/d in female) Rats (F344/N), 5000, 10000, 20000, 40000, 80000 (ppm 200), 600, 1200, 2400, 4800 mg/kg/d in male and 310, 650, 1250, 2500, 5000 mg/kg/d in female) 91 d, Feeding	Foetus/mother: hypertoxia and inflammation (120 mg/kg/d in male and 300 mg/kg/d in female), and mineralization (240 mg/kg/d in male and 300 mg/kg/d in female) Cerebellum: necrosis (240 mg/kg/d in male and 300 mg/kg/d in female) Thymus: necrosis (240 mg/kg/d in male and 300 mg/kg/d in female) Liver: absolute and relative organ weight increase (120 mg/kg/d in male and 18 mg/kg/d in female) Heart: absolute organ weight increase (75 mg/kg/d in female) and relative organ weight increase (150 mg/kg/d in male and 75 mg/kg/d in female) Right kidney: absolute organ weight increase (30 mg/kg/d in male and 75 mg/kg/d in female) and relative organ weight increase (80 mg/kg/d in male and 75 mg/kg/d in female) Clinical observation: tremors, salivation, emaciation, abnormal postures, and ruffled fur (240 mg/kg/d in male and 300 mg/kg/d in female) Rats (F344/N), 30, 60, 120, 240, 480 mg/kg/day in male and 18, 37, 75, 150, 300 mg/kg/d in female, 91d, Gavage
Integrated conclusion (eg. read-across)	read across from Member 5 LOAEL: 23.4 mg/kg/d	read across from Member 7 NOAEL: 219 mg/kg/d	read across from Member 5 LOAEL: 20 mg/kg/d	read across from Member 5 LOAEL: 15.9 mg/kg/d	LOAEL: 20 mg/kg/d	NOAEL: 47 mg/kg/d	NOAEL: 290 mg/kg/d	LOAEL: 18 mg/kg/d	
D value	0.01	1.45	0.01	0.009	0.01	0.235	1.45	0.009	
CSCL Hazard Class	class 3	out of class	class 3	class 3	class 3	class 4	out of class	class 3	

表 1. 塩化エタン類の反復投与毒性のリードアクロス予測のためのデータマトリックス

Member 1-4 : 評価対象物質、Member 5-8 : 類似物質。塩化エタン類の物理化学的性質、およびNIHS 統合DB から得られた反復投与毒性試験のデータを示す。

	Member 1	Member 2	Member 3	Member 4	Member 5	Member 6	Member 7	Member 8
CAS	76-01-7	75-34-3	630-20-6	79-00-5	79-34-5	67-72-1	71-55-6	107-06-2
Name	1,1,1,2,2-pentachloroethane	1,1-dichloroethane	1,1,1,2-tetrachloroethane	1,1,2-trichloroethane	1,1,2,2-Tetrachloroethane	Hexachloroethane	1,1,1-Trichloroethane	1,2-dichloroethane
Chemical information								
Absorption and excretion information	Mice were injected with (14C)-pentachloroethane subcutaneously at doses of 1.1-1.9 mg/kg and the excretion over a 3 d period was determined. About 1/3 of the dose (12.6%) was excreted unchanged.	Rats excreted 56% as unchanged 1,1-dichloroethane and mice 70%.	Rat excreted 34% of unchanged 1,1,1,2-dichloroethane in the air, 60% of the ingested dose was metabolized in urine.	Rodents excreted 40% of unchanged 1,1,2-trichloroethane in the air	46% were eliminated in urine as metabolites. 7% is excreted air (4 weeks, oral rat.)	Rats excreted 65% as unchanged 1,1-dichloroethane, 29% of the ingested dose was metabolized (4 weeks, oral rat.)	The primary route of excretion was rapid elimination in expired air; only 3% of the ingested dose was metabolized (6 hours, oral rat.)	Excretion of 1,2-dichloroethane and metabolites is rapid; in animal studies, excretion was essentially complete 48 hr after acute exposure. A large percentage of the dose (23%) was excreted as unchanged 1,2-dichloroethane in the exhaled air.
Ref.	Bingham, E., Coates, B., Powell, C.H., Parry, A. Toxicology Volume 1: 8-9 ed. John Wiley & Sons, New York, N.Y. (2001), p. 144	Bingham, E., Coates, B., Powell, C.H., Parry, A. Toxicology Volume 1: 8-9 ed. John Wiley & Sons, New York, N.Y. (2001), p. 16-19	Moore, C. et al. (1985). "Metabolic exposure study of chlorinated hydrocarbons in rats and mice." <i>Drug Chem Toxicol</i> 8(3): 183-194.	Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). 2011. Toxicologic profile for 1,1,2-Trichloroethane. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service.	AARC. Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. Geneva: World Health Organization, International Agency for Research on Cancer, p. V71-820 (1996)	American Conference of Governmental Industrial Hygienists. Documentation of the TLV's and BEI's with Other World Wide Occupational Exposure Values. CI-RCM Cincinnati, OH 45240-1524 2000. p. 3	AARC. Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. Geneva: World Health Organization, International Agency for Research on Cancer, p. V71-888 (1999)	Moore, C. et al. <i>Drug Chem Toxicol</i> 8(3): 183-194 (1985)
PubChem link	https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5141#section=Pharmacology-and-Biochemistry	https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/525#section=Pharmacology-and-Biochemistry	https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1741#section=Pharmacology-and-Biochemistry	https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/6577#section=Pharmacology-and-Biochemistry	https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5524#section=Pharmacology-and-Biochemistry	https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/5274#section=Pharmacology-and-Biochemistry	https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/118#section=Pharmacology-and-Biochemistry	https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/246#section=Pharmacology-and-Biochemistry
Metabolism information					Reductive Dehalogenation of Halobethanes Oxidative Dehalogenation of Alkyl Halides	Reductive Dehalogenation of Halobethanes Oxidative Dehalogenation of Alkyl Halides	Aliphatic Hydrolytic Dehalogenation	Oxidative Dehalogenation of Alkyl Halides Conjugation of Alkyl Chlorides with Glutathione
in vivo / in vitro (species)					in vitro: Thompson et al., (1965) in vitro: Casciola & Ivanetich (1984)	in vitro: Salmon et al., (1955)	in vitro: Casciola & Ivanetich (1984) in vitro: Thompson et al., (1965) in vitro: Kaneko et al., (1994)	in vitro: Jean & Reed (1992) in vitro: Casciola & Ivanetich (1984)
[Predicted]	481 Reductive Dehalogenation of Halobethanes (76) 484 Oxidative Dehalogenation of Alkyl Halides (319)	484 Oxidative Dehalogenation of Alkyl Halides (494)	481 Reductive Dehalogenation of Halobethanes (734)	481 Reductive Dehalogenation of Halobethanes (430)	481 Reductive Dehalogenation of Halobethanes (704)	481 Reductive Dehalogenation of Halobethanes (850)	168 Aliphatic Hydrolytic Dehalogenation (214) 137 Aliphatic Reductive Dehalogenation (154)	168 Aliphatic Hydrolytic Dehalogenation (507) 051 Conjugation of Alkyl Chlorides with Glutathione (497) 464 Oxidative Dehalogenation of Alkyl Halides (453)
Meteor Nexus: 3.1.0 (score)	oxidative dehalogenation alkyl (0.778) aliphatic_dehalogenation (0.776) aliphatic hydroxylation (0.776)	oxidative dehalogenation alkyl (0.800) aliphatic hydroxylation (0.800)	oxidative dehalogenation alkyl (0.545) aliphatic_dehalogenation (0.545)	aliphatic hydroxylation (0.824) aliphatic_dehalogenation alkyl (0.824) oxidative dehalogenation alkyl (0.824)	aliphatic_dehalogenation (0.824) aliphatic hydroxylation (0.824) oxidative dehalogenation alkyl (0.824)	reductive dehalogenation (0.0664)	aliphatic_hydroxylation_primary_carbon_and_in_SPC_or_SPL (0.303) carboxylation_primary_carbon_next_to_quaternary_carbon (0.308)	oxidative dehalogenation alkyl (0.616) aliphatic_dehalogenation (0.616) aliphatic hydroxylation (0.616)
TIMES (score)	#125 Aliphatic C-Hydroxylation (0.358) #240 Hydrolytic Cleavage (0.350) #614 Oxidative Dehalogenation (0.283)	#115 Aliphatic C-Hydroxylation (0.358) #125 Aliphatic C-Hydroxylation (0.358) #614 Oxidative Dehalogenation (0.283)	#332 Oxidative Dehalogenation (0.900)	#127 Aliphatic C-Hydroxylation (0.484) #332 Oxidative Dehalogenation (0.484)	#125 Aliphatic C-Hydroxylation (0.218) #182 Dehalogenation (0.218) #614 Oxidative Dehalogenation (0.172)	#625 Reductive dehalogenation (0.455)	#520 Aliphatic C-Hydroxylation (0.850)	#332 Oxidative Dehalogenation (0.146) #421 Conjugation of Alkyl Chlorides with Glutathione (0.146)
in vivo rat v.08.14								

表 1. (続き)

PubChem から得られた吸収・代謝・排出についての情報を示す。代謝は実測の結果と Meteor、GLORYx、TIMES による予測の結果を示す。