


# HESSの概要

2012年11月26日(月)  
(独)製品評価技術基盤機構  
化学物質管理センター



# 内容

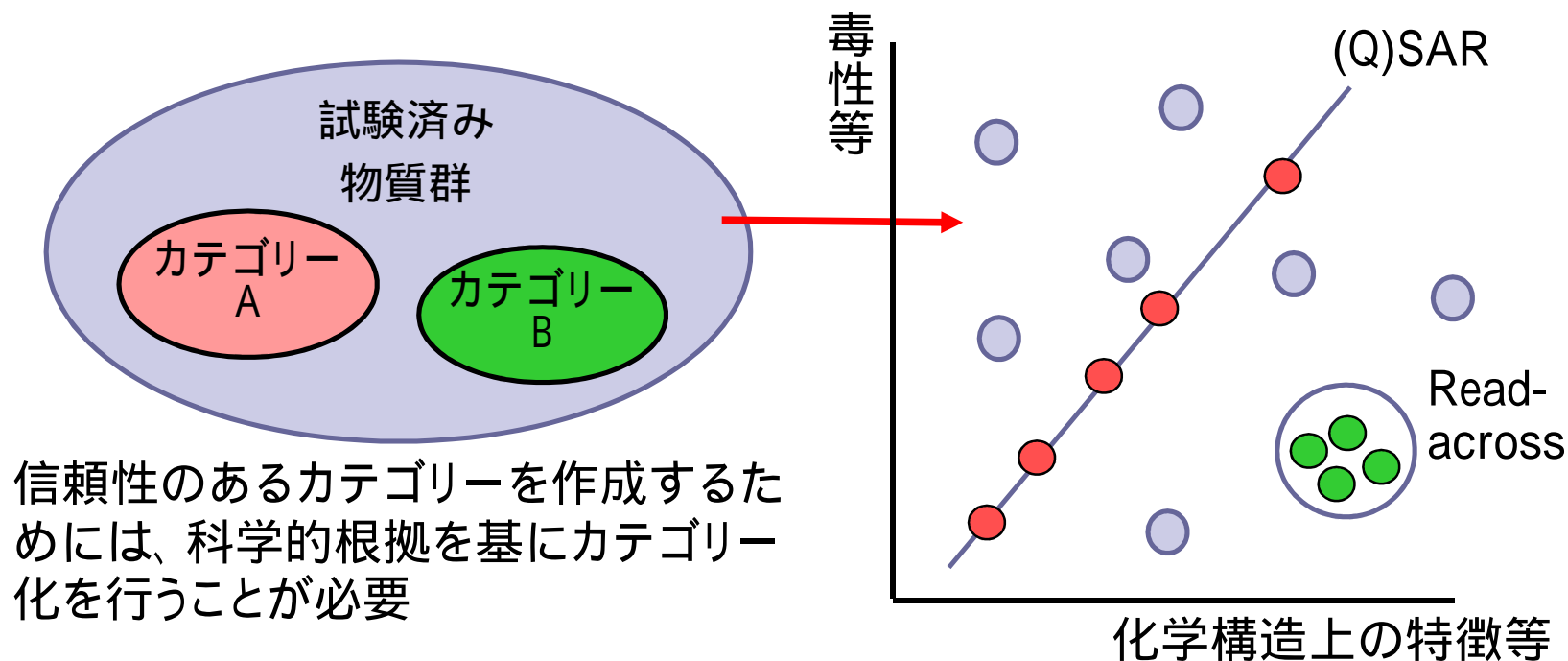
1. プロジェクトとH E S Sの概要
2. 反復投与毒性に関するカテゴリー化の方法
3. H E S Sの運用方針



# 1. プロジェクトとH E S Sの概要

# カテゴリーアプローチ\*

カテゴリーとは、構造類似性により物理化学的及び毒性学的特性が類似又は規則的なパターンを示すと考えられる化学物質のグループ。構造活性相関[(Q)SARや類推(Read-across)によるデータギャップ補完を行う。



信頼性のあるカテゴリーを作成するためには、科学的根拠を基にカテゴリー化を行うことが必要

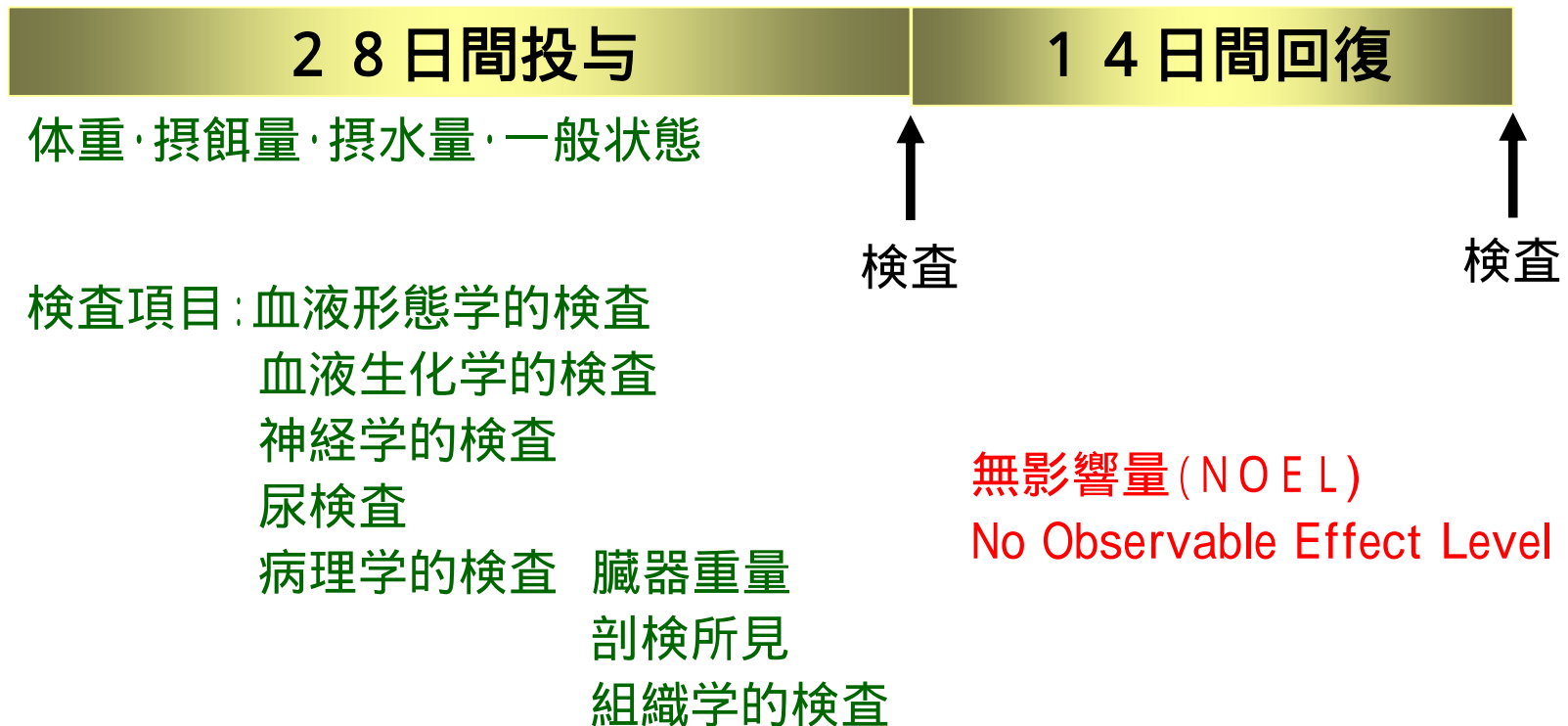
透明性の高い評価が可能なことから化学物質管理分野におけるデータギャップ補完手法の主流となっている。

\*OECD. 2007. OECD Environment, Health and Safety Publications Series on Testing and Assessment No. 80, Guidance on grouping of chemicals.

# 28日間反復投与毒性試験

目的：動物に被検物質を一定期間毎日反復投与したときに現れる生体の機能及び形態の変化を観察することにより、被検物質の毒性を明らかにすることを目的とする。

齧歯類(原則ラット)





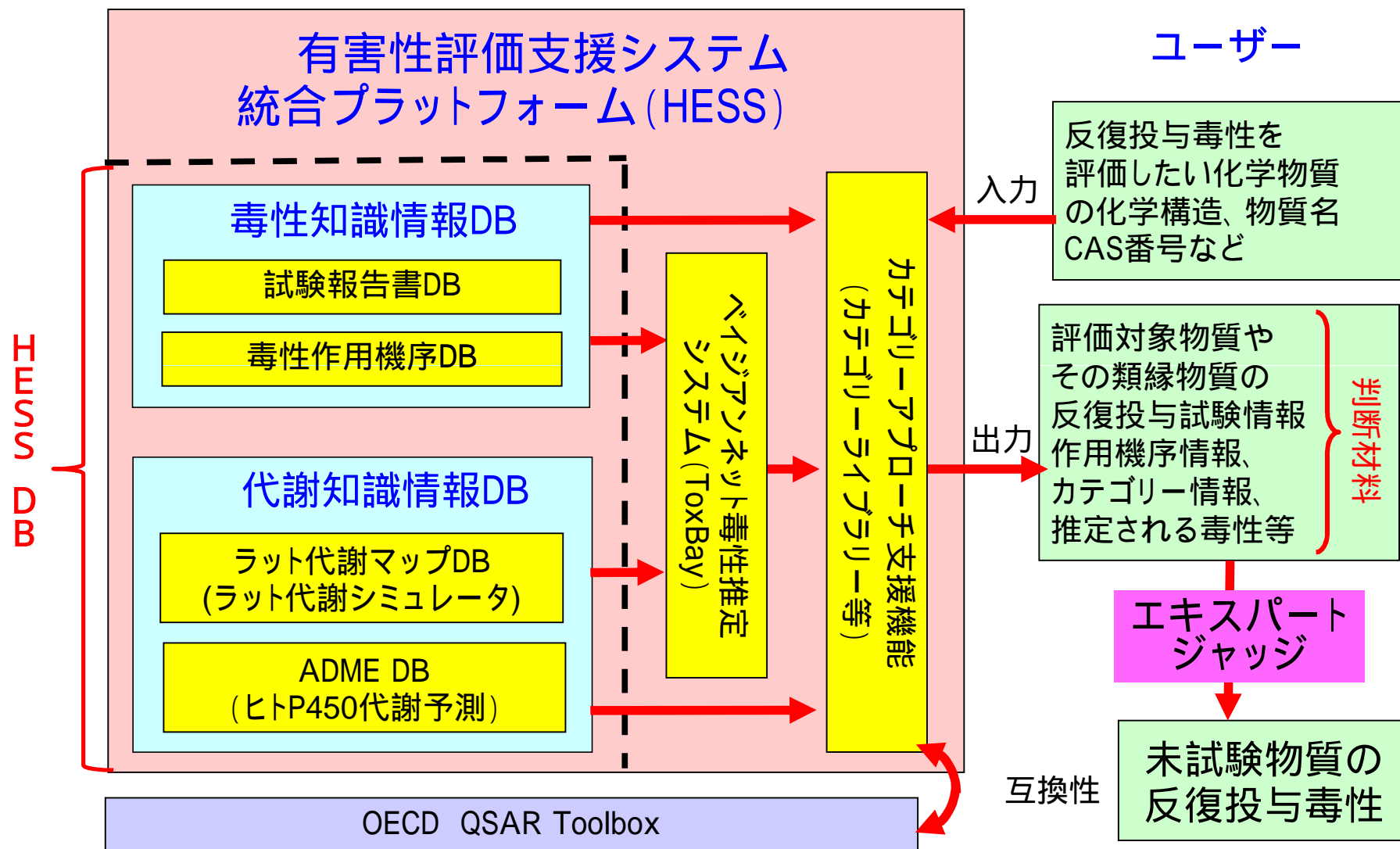
NEDO/経済産業省委託事業

## 「構造活性相関手法による有害性評価手法開発」

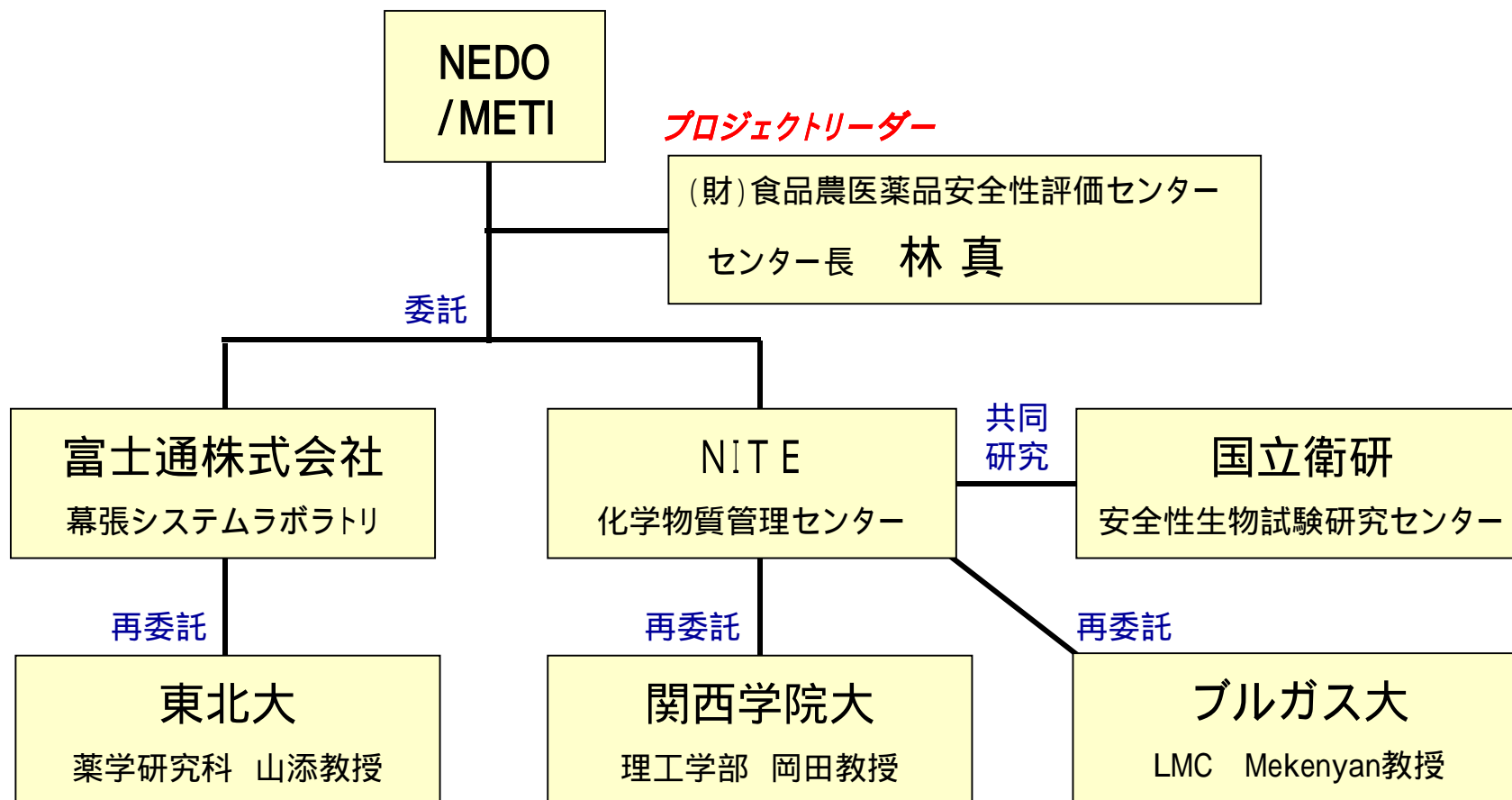
実施期間:平成19年度～平成23年度

基本計画:化学物質のリスク評価におけるヒト健康影響の評価に際し、安全性試験データがない化学物質に対し、類似化学物質の反復投与毒性試験データやその他の既知見を用いて、カテゴリーアプローチ等の手法により反復投与毒性を推定できるよう必要となる判断材料を評価者(専門家)に提供するデータベース及び評価支援システムを開発する。

# 開発システムの構成



# 実施体制





# 試験報告書DB (収載試験報告書)

一般化学物質(500物質)に対するラットの反復経口投与毒性試験報告書。(GLP準拠の類似した試験条件下で行われ、詳細なデータが公表されているものを選定)。

(試験数)

報告書群	投与経路			投与期間			合計
	強制経口	混餌	飲水	28-30日	約42日	12-17週	
厚労省 / 国衛研 化審法試験	268	0	0	144	122	2	268
経産省 / NITE 試験	50	0	0	27	23	0	50
米国NTP短期試験	20	22	15	4	0	53	57
米国NTP長期試験 (予備試験)	66	49	9	2	0	122	124
Journal Paper	19	12	0	18	3	10	31
合計	423	83	24	195	148	187	530

併合試験。雄ラットの反復投与毒性試験データのみ使用。

# 開発の流れ

反復投与毒性試験データ（一般化学物質500物質）

毒性専門家とQSAR専門家  
によるデータ解析

カテゴリーライブラリー


搭載

Hazard Evaluation Support System (HESS)

# カテゴリーアプローチ支援機能

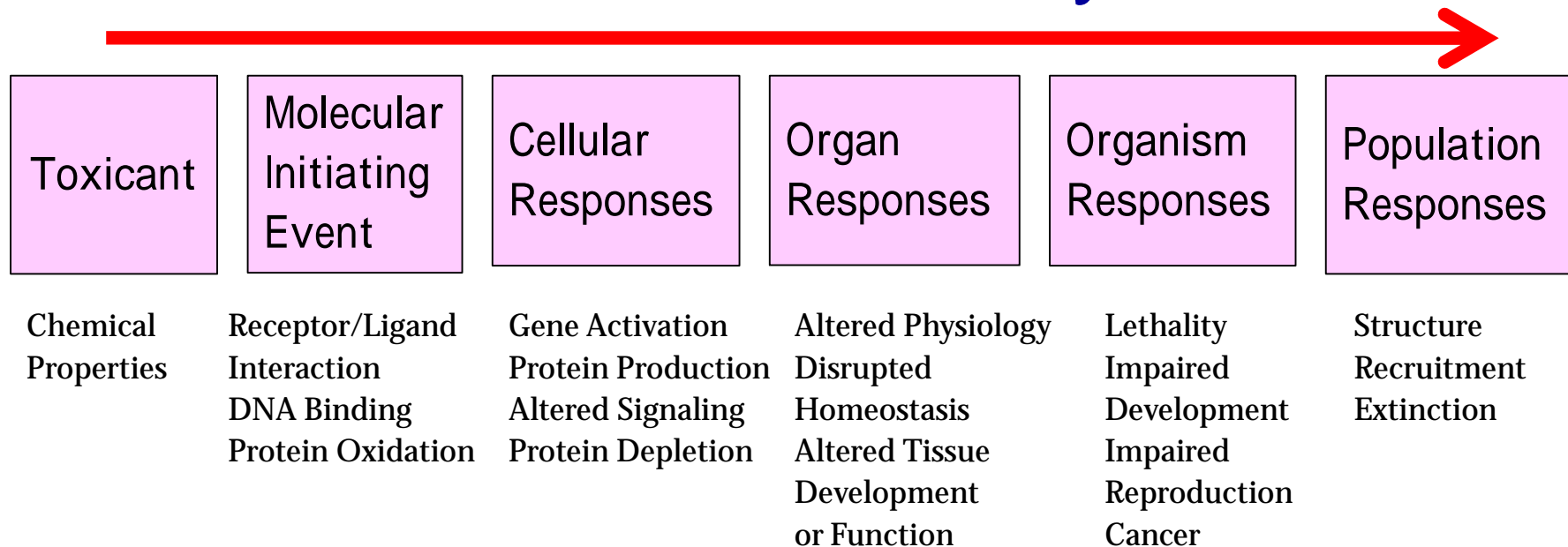


33種類のカテゴリーの領域を定義し、各カテゴリーを説明したレポートとともにシステムに登録(カテゴリーライブラリー)。



## 2 . 反復投与毒性に関するカテゴリー化の方法

# Adverse Outcome Pathway (AOP)\*



AOPとは、分子レベルのトリガーとなる反応から、細胞レベル、生レベルのメカニズムを経て、最終的な毒性発現に至るまでの経路を示したもの。現バージョンのツールボックスで対応できていない有害性発現メカニズムが複雑なエンドポイントについては、AOPに基づいてカテゴリー作成するコンセプトがOECDから提案され、最近、精力的に検討がなされている。

\*OECD. 2011. OECD Environment, Health and Safety Publications Series on Testing and Assessment No. 138 , Report of the workshop on using mechanistic information in forming chemical categories.

# 反復投与毒性のカテゴリー作成の方針

化学構造から毒性を推定する際の根拠とするため、

化学構造上の特徴

毒性のメカニズム

反復投与毒性試験における毒性発現の傾向

(毒性強度等)

が類似する物質群をカテゴリーとして定義した。

反復投与毒性における Adverse Outcome Pathway (AOP)



# 反復投与毒性のカテゴリー作成の手順

## Class Effect と その作用機序の調査及びAOPの作成

特定の物質群に対し特定の毒性傾向が知られている物質を調査し（文献情報）、AOPを作成する。

## 反復投与毒性試験データとの比較。

当該試験条件における毒性強度の構造依存性（官能基、脂溶性等）を確認。

## カテゴリー領域の定義

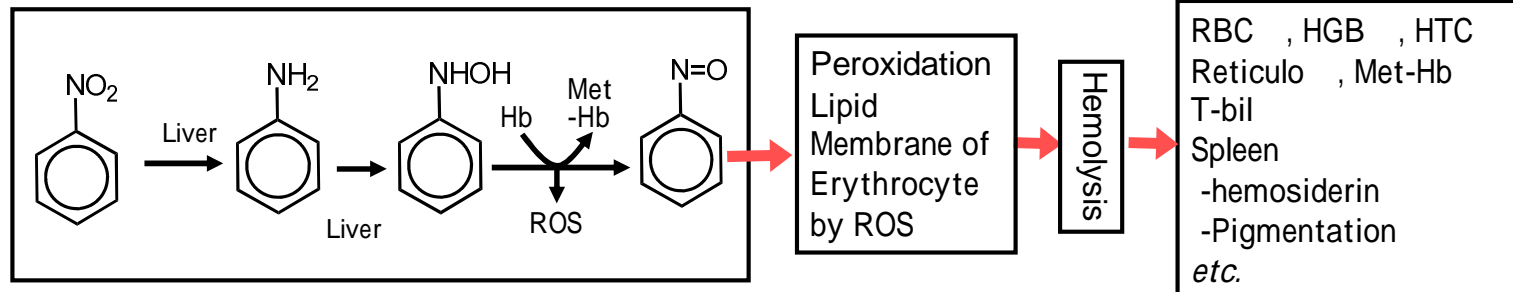
において強く毒性が発現することが認められた構造領域

# ニトロベンゼン類に対する3つのAOP

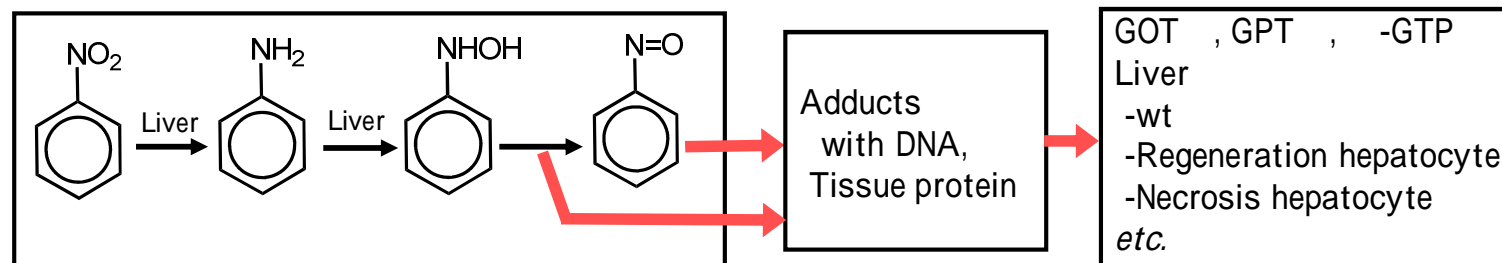
## 分子レベルのメカニズム

## 反復投与毒性の所見

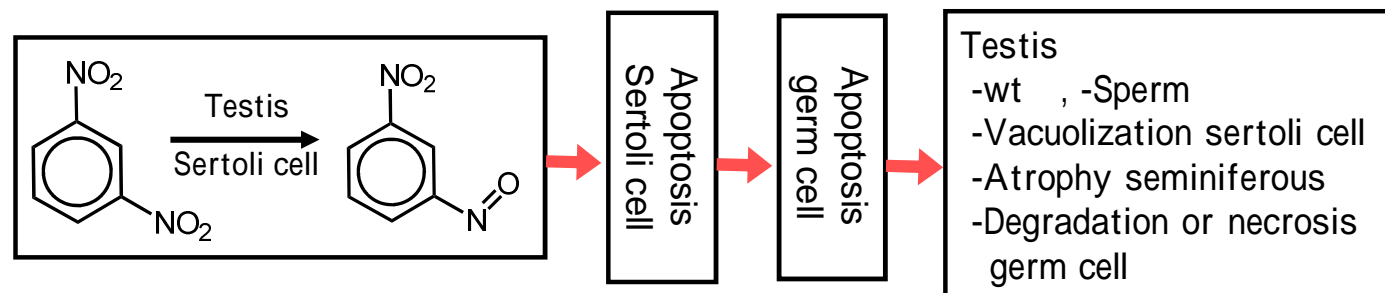
溶血性  
貧血



肝臓影響

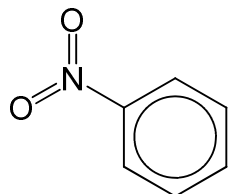


精巣影響





# 反復投与毒性試験データの確認

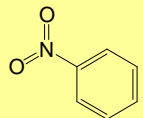
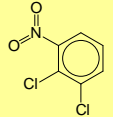
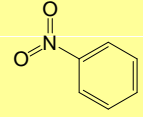
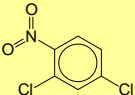
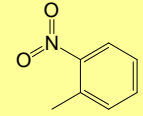
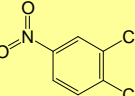
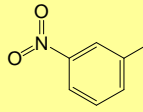
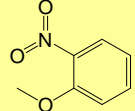
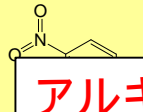
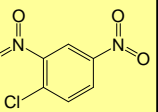
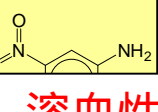


Dose level	3 doses (5, 25, 125 mg/kg) , 6 animals/sex/group
NOEL	<5 mg/kg/day

Body weight	↓: 125♂♀
Food consumption	↓: 125♂♀
Hematology	<b>RBC↓, WBC↑: &gt;25♂, 125♀ , Hgb↓: &gt;25♂♀ , Hct↓: &gt;25♂</b>
Blood chemistry	<b>Cho↑: &gt;5♀, &gt;25♂, Alt↑, TP↑: 125♀ , Alb↑: &gt;25♂, 125♀ , A/G↑: 125♂♀</b>
Absolute organ weight	<b>Spleen↑, Liver↑: &gt;25♂♀ , Kidney↑: 125♀ , Testis↓: 125♂</b>
Relative organ weight	<b>Liver↑: &gt;5♂, &gt;25♀</b> <b>Spleen↑: 5♂♀ , Kidney↑: 125♂♀ , Testis↓: 125♂</b>
Histopathology	<b>Spleen-Congestion • Red pulp brown pigmentation: &gt;5♀, &gt;25♂</b> <b>Spleen-Extramedullary hematopoiesis: &gt;5♂♀</b> <b>Bone marrow-Hematopoiesis: &gt;5♀, 125♂</b> Cerebellum-Spongiotic change, Brown pigmentation perivascular region: 125♂♀ <b>Liver-Extramedullary hematopoiesis, Kupffer's cell brown pigmentation: 125♂♀</b> Kidney-Tubular epithelium brown pigmentation: 125♂♀ <b>Testis-Seminiferous tubular epithelium degeneration, Seminiferous tubular atrophy: 125♂</b> <b>Epididymis-Reduction spermatosis: 125♂</b>

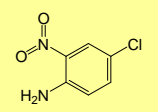
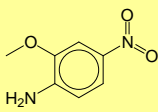
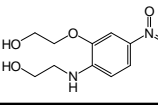
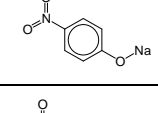
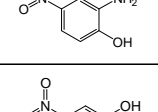
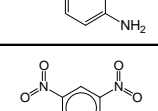
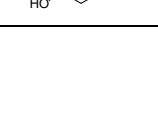
Anemia  
Liver  
Testis

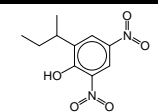
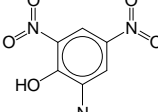
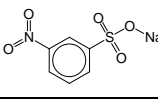
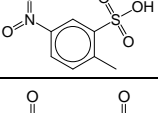
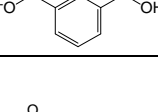
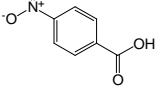
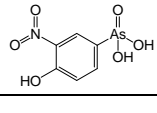
# ニトロベンゼン類の溶血性貧血に関する所見 (1)

RDT Test data (mg/kg/day)*1				RDT Test data (mg/kg/day)*1			
Chemical	Structure	NOEL, LOEL	Observed effects related to the target endpoint	Chemical	Structure	NOEL, LOEL	Observed effects related to the target endpoint*2
1		:<5, 5 :<5, 5	RBC :>25 , 125 , Hgb :>25 , Hct :>25 Spleen- abs wt :>25 , relat wt :>25 Congestion: >5 , >25 , Red pulp brown pigmentation: >5 , >25 , Extramedullary hematopoiesis: >5 Liver- Extramedullary hematopoiesis: 125 , Kupffer's cell brown pigmentation: 125 (Bone marrow- Hematopoiesis: >5 , 125 )	6		:5, 25	Hgb : 100 , Hct : 100 , Ret : 100 Spleen- hemosiderosis: >25 , hematopoiesis: 100
2		:<20, 20 :<20, 20	Hct :>20 , Hgb :>20 , RBC :>20 , Methgb :>20 , Ret :>60 Spleen- abs wt :>20 , relat wt :>20 Extramedullary hematopoiesis: >20 , Spleen-Brown pigmentation: >20 Liver- Brown pigmentation Kupffer cell: >20 , Extramedullary hematopoiesis: >20	7		:<8, 8	Hct :>40 , Hgb :>40 , RBC :>8 , Ret :>40 Spleen- deposit of pigment: >8
3		:<48, 48 :<48, 48	Hct :>384 , Hgb :>384 , RBC :>192 , >384 , Ret :>384 , Methgb :>48 , >96 Spleen- Hematopoiesis: >192 , >384 , Hemosiderin pigment: >192 , >384	8		:<4, 4	Hct : 100 , Hgb : 100 , RBC : 100 , Ret :>20 Spleen- abs wt : 100 , relat wt : 100 Congestion: 100 Increased extramedullary hematopoiesis: 100 Liver- Deposit of hemosiderin: 100
4		:<48, 48 :<48, 48	Hct : 769 , Hgb : 769 , RBC : 769 Ret :>384 , 769 Methgb :>192 , 769 Spleen- Hemosiderin pigment: >48 , >192 Congestion: >384 , 769	9		:<15, 15 :<15, 15	Hct :>154 , Hgb :>154 , RBC :>154 , >462 , Ret :>15 , >154 , Met-Hgb :>462 Spleen- abs wt :>462 , relat wt :>462 Congestion: >462 , 1385 , Spleen-Pigment: 1385 Liver- Pigment: 1385
5		:<48, 48	Hgb :>384 , RBC :>384 , Methgb : 769 Spleen-	10		:1, 6	-
				11		:<15, 15 :<15, 15	Hct :>15 , Hgb :>15 , RBC :>15 , Ret :>50 Spleen- relat wt :>15 , >50 , abs wt :>50 , Hemosiderosis: >50

アルキルやハロゲン化ニトロベンゼン類では、溶血性貧血がNOELの根拠となる傾向がある。

## ニトロベンゼン類の溶血性貧血に関する所見(2)

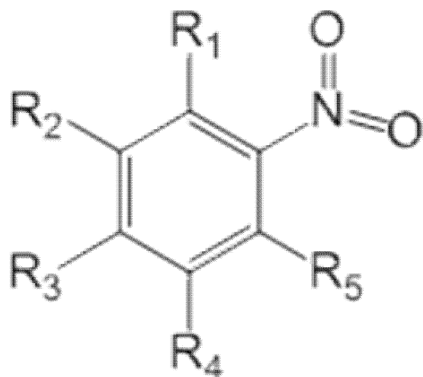
	Chemical	RDT Test data (mg/kg/day)*1	
	Structure	NOEL, LOEL	Observed effects related to the target endpoint*2
12		:10, 60 :-	Hct : >60 Ret : 300
13		:30, 100 :30, 100	Hct : >100 , 300 , Hgb : 300 , RBC : 300 , Ret : 300 Spleen- abs wt : 300 , relat wt : 300 , Deposit, pigment: 300 Extramedullary, hematopoiesis: 300 Liver- Deposit, pigment: 300 , Extramedullary, hematopoiesis: 300
14		:<192, 192 :<192, 192	-
15		:160, 400 :160, 400	-
16		:125, 250 :125, 250	-
17		:<100, 100 :<100, 100	-
18		:10, 30 :10, 30	-

	Chemical	RDT Test data (mg/kg/day)*1	
	Structure	NOEL, LOEL	Observed effects related to the target endpoint*2
19		:<0.78, 0.78	Hgb : >2.33 (RBC : >0.78 , Hct : >0.78 )
20		:20, 100 :20, 100	Hgb : 100 , RBC : 100 Ret : 100 Spleen- abs wt : 100 relat wt : 100 Hemosiderin deposition: 100 Extramedullary, hematopoiesis, erythrocytic: 100
21		:1000, - :1000, -	-
22		:175, 350	-
23		:20, 100	RBC : 500
24		:<48, 48 :<48, 48	Hct : >192 , 769 , Hgb : 769 , RBC : 769 Met-Hgb : >48 , >385 Spleen- abs wt : 769 relat wt : >384 Congestion: >192 , 769 Pigmentation: >192
25		:<4, 4 :<4, 4	-

異なるメカニズム  
が知られている

カテゴリー領域外

## ニトロベンゼン類の溶血性貧血におけるカテゴリ領域の定義



$R_1 \sim R_5 = \text{H, alkyl, halogen, alkoxy, NH}_2 \text{ or NO}_2.$

---

### トレーニングセットの情報

13 studies for 12 chemicals

MW: 123-203, logKow: 1.5-2.7

Hemolytic anemia was observed in 92%(12/13) of studies.

LOEL for hemolytic anemia: 5-192

LOEL for whole body: 5-100

Rank of reliability: A

## 作成した反復投与毒性カテゴリー (1)

Category (effect)	Number of category members	LOEL for target effect (mg/kg/day)	Reliability ranking
Azobenzenes ( <b>Hemolytic anemia</b> )	2	0.6±5.7	B
Imidazole-2-thione derivatives (Thyrototoxicity)	2	5.5±5.8	B
Diphenyl disulfides ( <b>Hemolytic anemia</b> )	1	30	B
Hydrazines ( <b>Hemolytic anemia</b> )	2	20±127	B
Acrylamides (Neurotoxicity)	2	21±111	B
Oximes ( <b>Hemolytic anemia</b> )	3	23±7	B
Aliphatic nitriles ( <b>Hepato toxicity</b> )	4	33±46	B
Nitrobenzenes ( <b>Hemolytic anemia</b> )	12	54±82	A
Hydroquinones ( <b>Hepatotoxicity</b> )	2	55±64	B
p-Aminophenols (Renal toxicity)	2	63±476	B
Phenyl Phosphates (Lipidosis of adrenocortical cells)	4	70±34	C
Anilines ( <b>Hemolytic anemia</b> )	18	72±40	A
4,4'-Methylenedianilines/Benzidines (Hepatobiliary toxicity)	5	75±156	B
Aliphatic/Alicyclic hydrocarbons (Alpha 2u-globulin nephropathy)	6	76±100	C
Aromatic Hydrocarbons ( <b>Hepato toxicity</b> )	9	83±51	C
N-Alkyl-N'-phenyl-p-phenylenediamine ( <b>Hemolytic anemia</b> )	2	100	B

## 作成した反復投与毒性カテゴリー(2)

Category (effect)	Number of category members	LOEL for target effect (mg/kg/day)	Reliability ranking
Halobenzenes (Renal toxicity)	9	101±79	A
Nitrobenzenes (Hepato toxicity)	12	108±96	C
Ethyleneglycol Alkylethers (Hemolytic anemia)	5	110±192	A
Organophosphates (Neurotoxicity)	7	116±98	A
Anilines (Hepato toxicity)	18	146±70	C
Aliphatic amines (Mucous membrane irritation)	6	148±202	C
Halobenzenes (Hepato toxicity)	9	151±129	A
Benzene or Naphthalene sulfonic acid (Less susceptible)	13	223±355	C
Ethyleneglycol Alkylethers (Testicular toxicity)	2	231±2077	B
Nitrobenzenes (Testicular toxicity)	4	237±278	C
p-Alkylphenols (Hepatotoxicity)	7	250±381	A
o-/p-Aminophenols (Hemolytic anemia)	3	254±606	B
Benzain sulfonamide (Toxicity to urinary system)	2	310±2414	B
Nitrophenols/Halophenols (Mitochondrial dysfunction)	13	314±218	C
Phenols (Mucous membrane irritation)	25	405±231	C
Halogenated Aliphatic Compounds (Hepato toxicity)	17	533±756	C
Phthalate esters (Testicular toxicity)	3	886±1466	C

# カテゴリーの信頼性のランク付け

信頼性ランク	A	B	C
メカニズム情報	Molecular Initiating Event からの毒性発現のメカニズムが説明されているもの。	Molecular Initiating Event からの毒性発現のメカニズムが説明されているもの。	Molecular Initiating Event からの毒性発現のメカニズムは説明されていないが、特定の構造的特徴を持つ物質に対し特定の毒性を発現することが文献等で報告されているもの。
構造領域	反復投与毒性試験データが多くの物質に対し得られており、反復投与毒性試験データを根拠に毒性が発現する構造領域を定義することが可能であるもの	反復投与毒性試験データが多くの物質に対し得られておらず、反復投与毒性試験データを根拠に毒性が発現する構造領域を定義することはできないが、in vitro試験等の別の試験の文献情報を根拠に毒性が発現する構造領域を定義できるもの	反復投与毒性試験データが多くの物質に対し得られており、反復投与毒性試験データを根拠に毒性が発現する構造領域を定義することが可能であるもの



## 3 . HESSの運用





## 開発システムの活用について

### (1) 化審法での活用を目指す

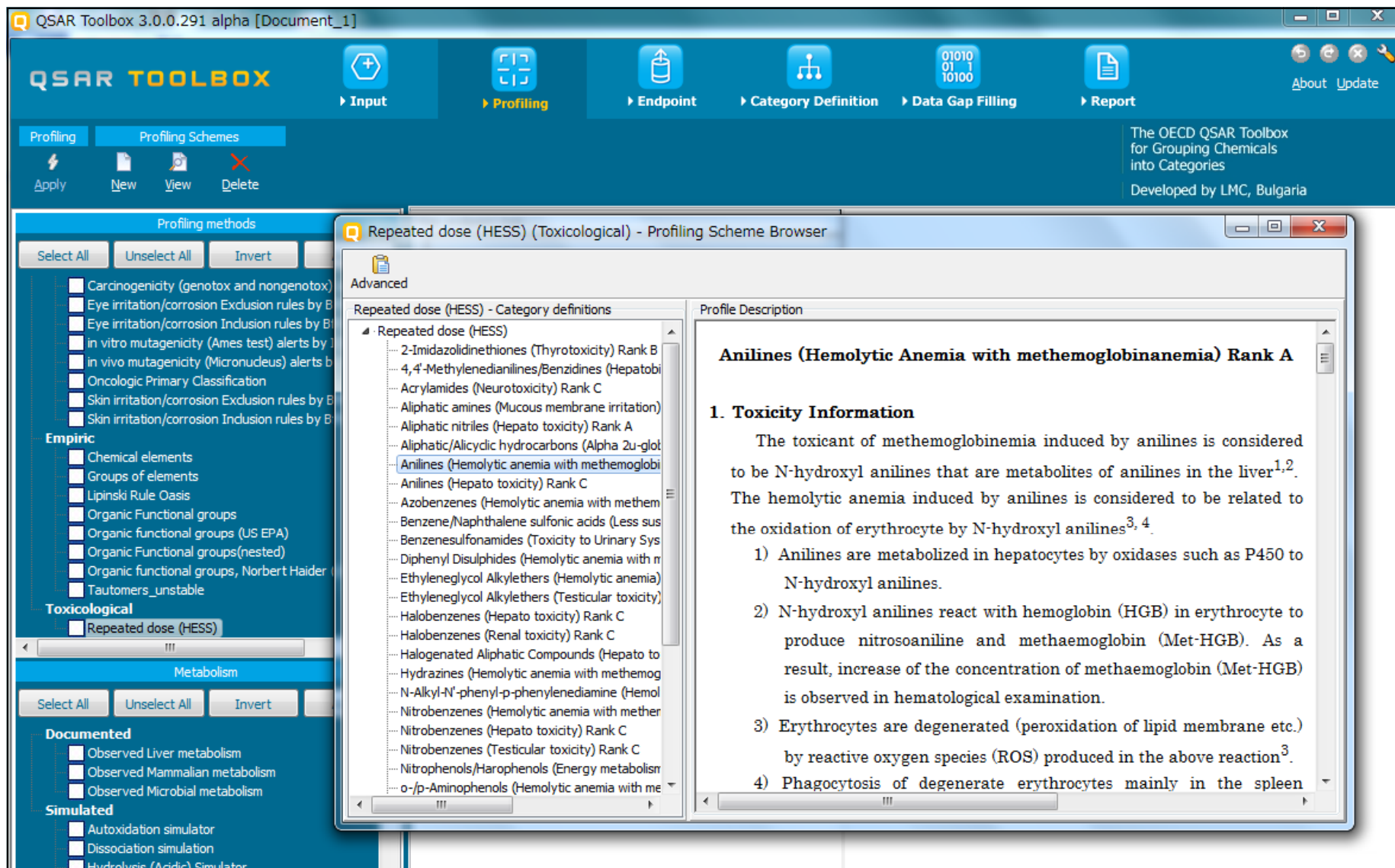
反復投与毒性に関する審査支援ツールとして  
リスク評価に必要な判断材料の補完

### (2) 事業者の自主的な有害性評価への活用

安全な化学物質を効率良く開発することを支援  
(ユーザ独自のデータを追加・解析することが可能)

### (3) OECD QSAR Toolboxへの搭載による国際普及

国際的に認められた評価手法とし、加盟国等関係者が同じ  
手法を用いて評価することができるようにする



カテゴリーライブラリーはOECD QSAR Toolboxに移植されている。  
ECHAにおいてREACH届出物質の評価等において活用されている



## 開発システムの運用

- ・ユーザ様からの問い合わせに常時対応。
- ・公開された化審法既存物質の試験データを中心に反復投与毒性試験データを定期的に追加。
- ・新しい知見に基づく、作用機序情報の追加。カテゴリーの拡充等。
- ・開発システムを用いたデータギャップ補完のケーススタディの拡充。使用分野の開拓。
- ・公開後の使用状況やユーザ様からの要望を基に、必要に応じて機能を追加。