

構造活性相関手法による有害性評価 手法開発の概要について

NITE化学物質管理センター成果発表会 2008
2008年7月3日

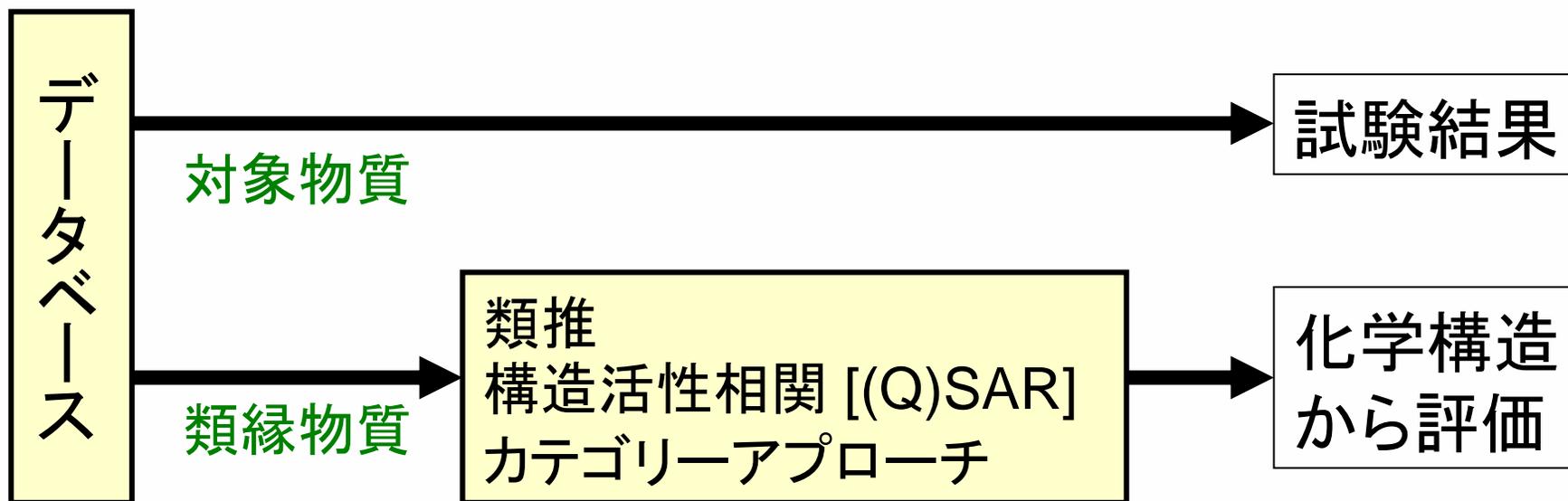
化学物質管理センター
安全審査課 櫻谷 祐企

目次

- 1 プロジェクトの背景と全体像
- 2 評価手法開発の実例

1 プロジェクトの背景と全体像

反復投与毒性を対象としたプロジェクト



構造活性相関行政利用の国際動向

REACH（2007年6月施行）

OECD（Q）SARプログラム（2003年1月～）

- ・バリデーション原則
- ・ガイダンス文書
- ・QSARアプリケーションツールボックス

表-1 化審法の主要有害性評価試験と(Q)SAR開発の現状

	分解度試験	濃縮度試験	生態毒性試験
試験実施費用 及び期間	140～200万円 60～120日	600～850万円 120～180日	96～216万円 約90日
化審法物質試験データ数 (2006年6月公表済)	1495物質	805物質	394物質
主な構造活性関連 モデル	BIOWIN, CERIMODEL, CATABOL	BIOWIN, CERIMODEL, Baseline Model	ECOSAR, KATE, TIMES

	Ames試験	染色体異常試験	28日間反復投与 毒性試験
試験実施費用 及び期間	50～80万円 45～60日	180～230万円 60～90日	750～950万円 150～180日
化審法物質試験データ数 (2006年6月公表済)	245物質	255物質	153物質
主な構造活性関連 モデル	DERECK, MultiCase AdmeWorks, TIMES	DERECK, MultiCase, AdmeWorks, TIMES	実用的なモデル は無い

反復投与毒性と構造活性相関

- ・反復投与毒性試験は、各種検査値・病理所見を基に専門家の総合判断により無影響量(NOEL)、無毒性量(NOAEL)、標的臓器などが判断される。
- ・多種多様な要因が混在する反復投与毒性の試験結果を化学構造と直接的に関連付けることは困難。



- ・種々の既知見を最大限に活用する総合評価方式が有効(OECD QSARアプリケーションツールボックス式のカテゴリーアプローチ等)。

ヒトに対する毒性を既知の周辺情報やそれらから得られる新たな知見を基に、専門家がよりの的確、効率よく評価出来るような、有害性評価支援システム統合プラットフォームの構築を目的とし、化学物質のリスク評価・管理の効率的な実施に貢献する。(実施期間:H19-23)

研究開発項目

- ①毒性知識情報データベースの開発
- ②代謝知識情報データベースの開発
- ③有害性評価支援システム統合プラットフォームの開発

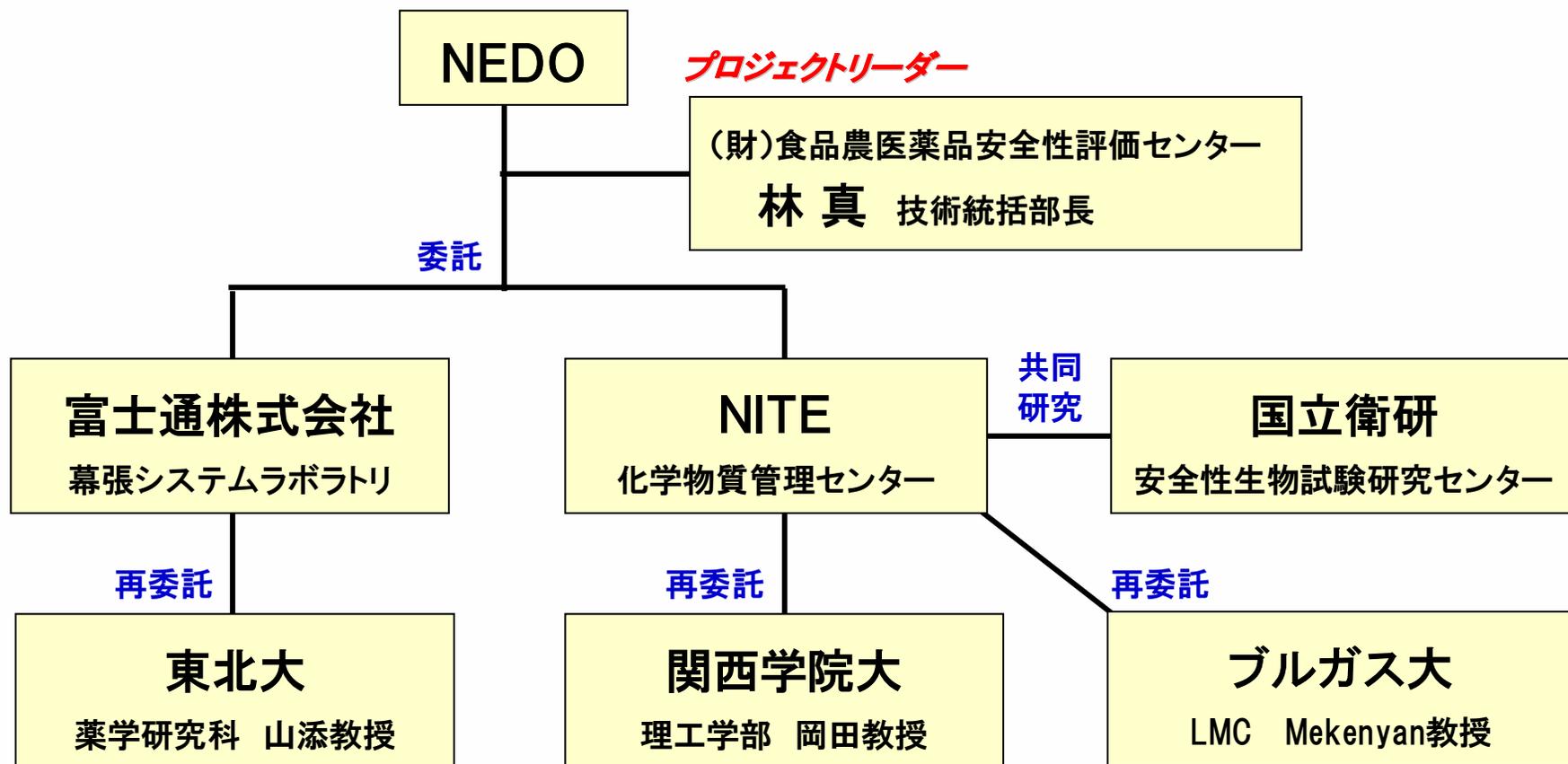


図-1 プロジェクトの実施体制

毒性知識情報データベースの開発

1 試験報告書データベースの開発

(NITE、国立衛研、富士通)

化審法既存化学物質を中心に反復投与毒性試験データの
詳細(各種検査値、病理所見等)をデータベース化。

2 作用機序データベースの開発

(NITE、国立衛研、富士通)

In vitro試験や毒性パスウェイなど毒性のメカニズムに関する
文献情報をデータベース化。

代謝知識情報データベースの開発

1 ラット代謝情報の収集とデータベース構築

(NITE、ブルガス大)

主としてラット肝臓における化学物質の代謝経路情報をデータベース化。

2 ヒト・ラット代謝関連情報の収集とデータベース構築

(富士通、東北大)

毒性の種差を検討するために必要となるヒト及びラットの代謝関連情報をデータベース化。

有害性評価支援システム 統合プラットフォームの開発

1. 有害性評価支援システム統合プラットフォームの開発
(NITE、ブルガス大、富士通)
反復投与毒性と構造との関係の解析支援システム。
2. カテゴリーライブラリーの作成
(NITE、ブルガス大)
反復投与毒性を対象としたカテゴリーの実例。
3. ベイジアンネットによる反復毒性推定手法の開発
(NITE、関学大)
ベイズの定理による反復投与毒性の推定モデル。

2 評価手法開発の実例

～研究開発項目③-2:『カテゴリーライブラリーの作成』の一例～

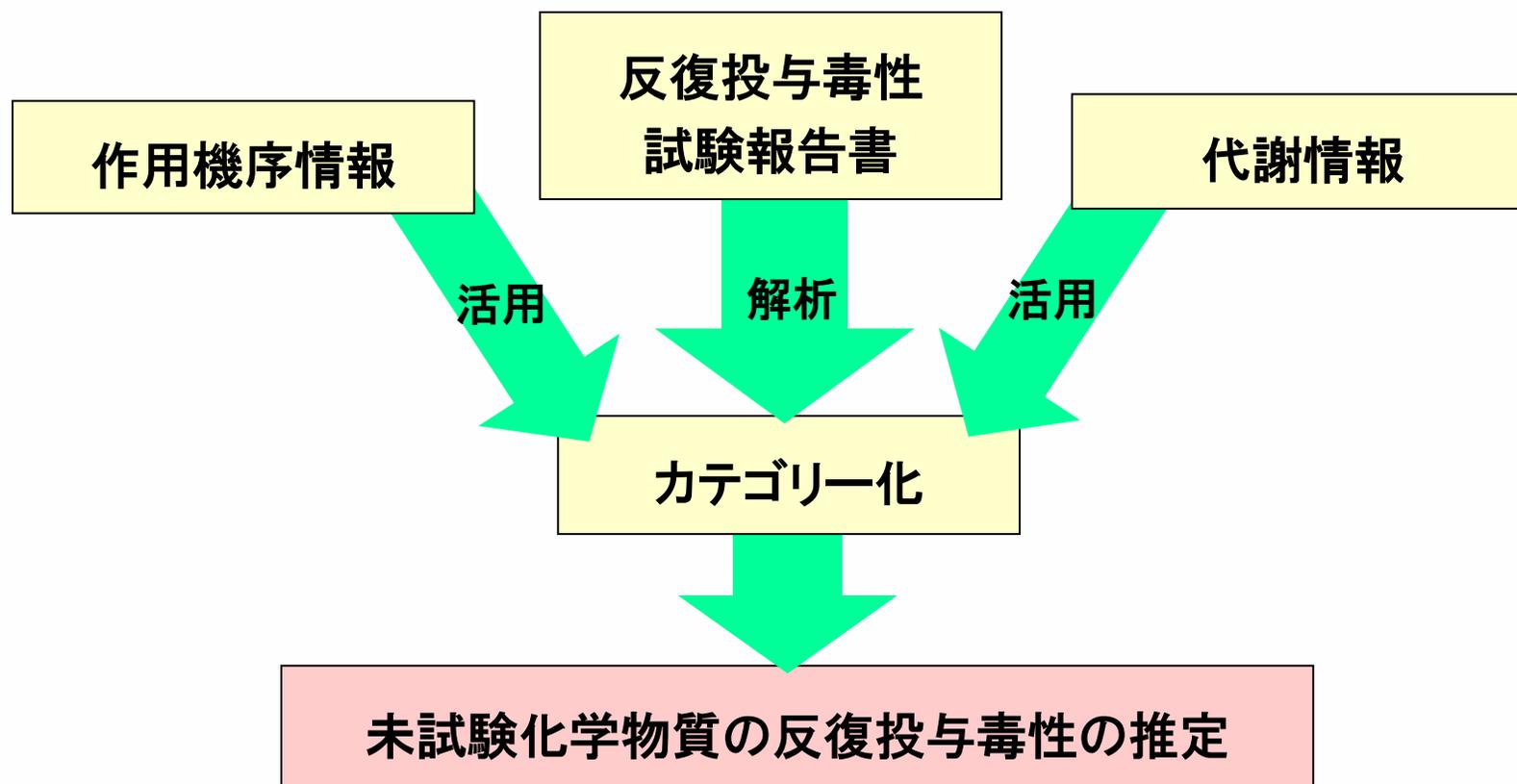
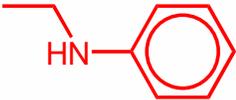
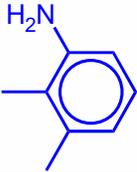
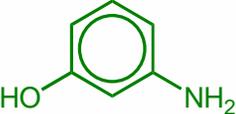
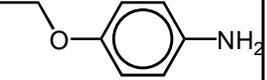
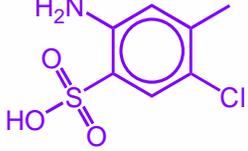
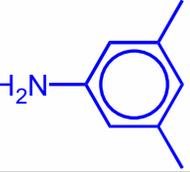
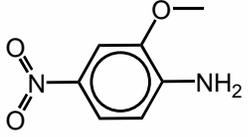
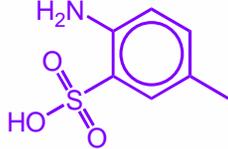
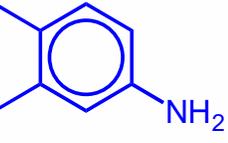
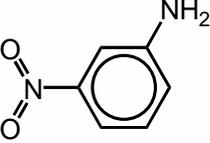
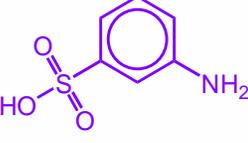
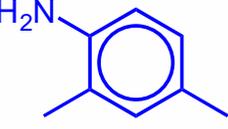


表-2 反復投与毒性試験報告書(雄ラット)を解析したアニリン類

No.	化学構造	NOEL*	標的臓器	No.	化学構造	NOEL*	標的臓器	No.	化学構造	NOEL*	標的臓器
1		1	赤血球	6		12	赤血球 肝臓 腎臓	11		80	赤血球 肝臓 腎臓
2		<5	赤血球	7		40	赤血球	12		1000	
3		10	赤血球 肝臓 腎臓 甲状腺	8		30	赤血球 肝臓 心臓	13		300	
4		10	赤血球 肝臓	9		<15	赤血球 肝臓 腎臓 精巣	14		300	
5		2	赤血球 肝臓	10		20	赤血球 腎臓	* mg/kg/day			

反復投与毒性試験データの解析方法

1. 構造と毒性を関連付けるため、物質間で毒性の内容を比較することが目的。
2. 各用量で得られた所見を標的臓器に帰属し、これらを基に各臓器の毒性の内容や強度を表現。
3. 所見の標的臓器への帰属の際には化学物質の直接的な作用によるものか、他の臓器の影響による間接的な作用によるものかを考慮。

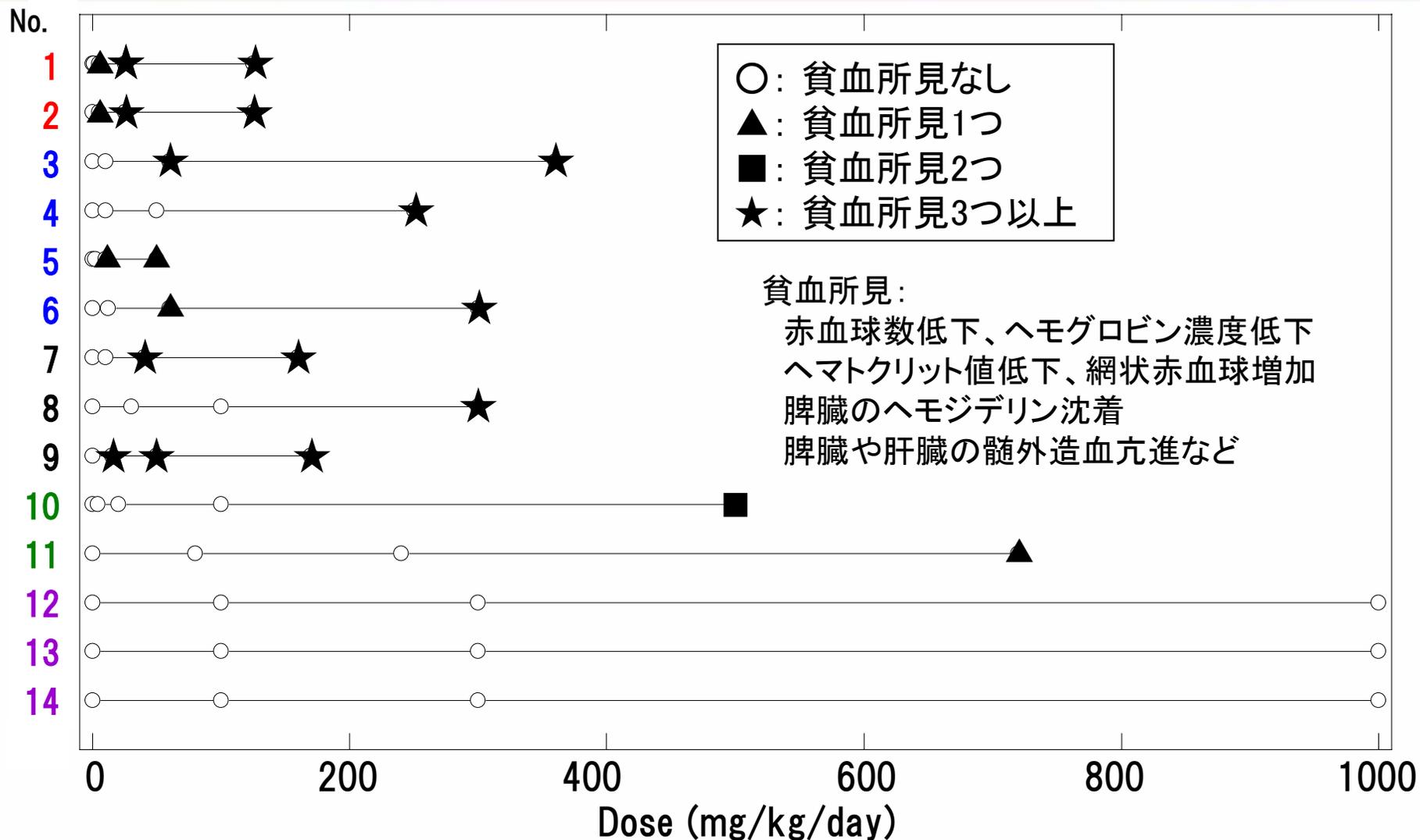


図-2. アニリン類の各用量における貧血所見の強度（雄ラット）

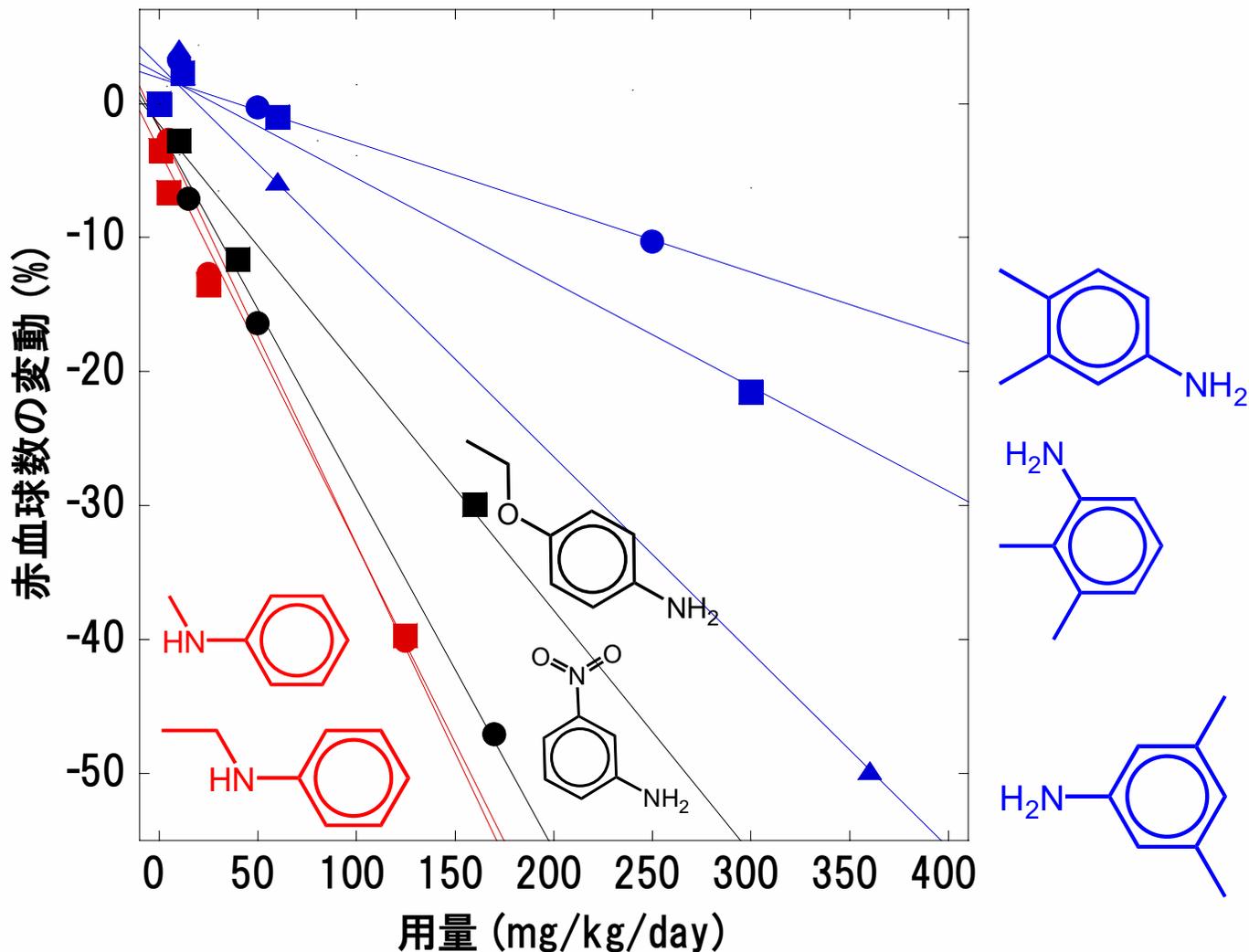


図-3. アニリン類の赤血球数の変動（雄ラット）

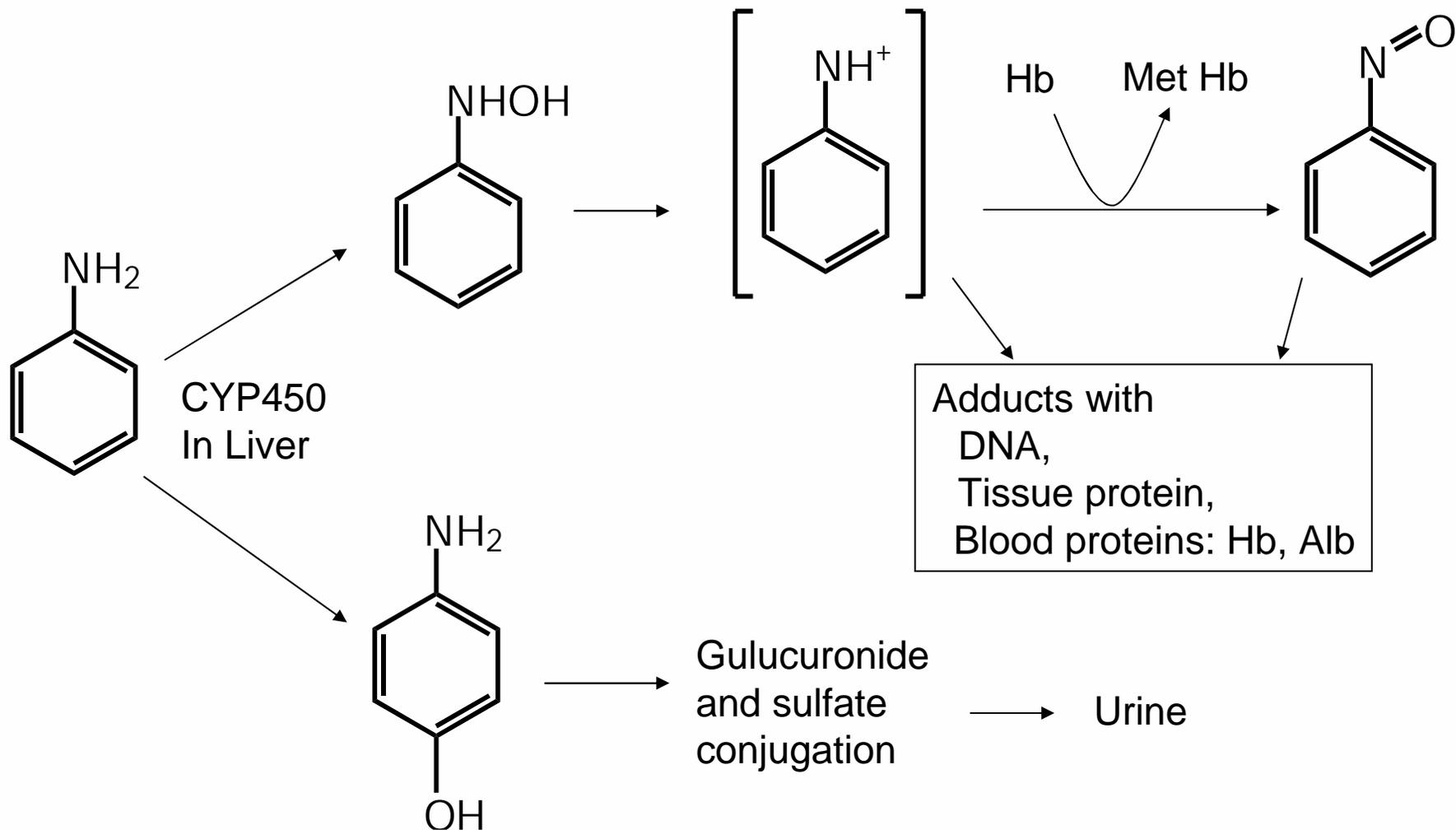


図-4. アニリン類の毒性作用機序

ヘモグロビン結合指数(HBI)

Sabbioni, *Environ. Health Perspect.* **102** (1994) 61-67.

定義

$$\text{HBI} = (\text{mmol 化合物/mol ヘモグロビン}) / (\text{mmol 化合物/体重})$$

量子化学計算によるHBIの算出

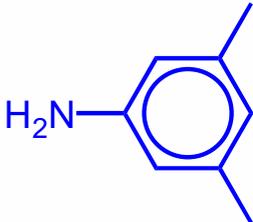
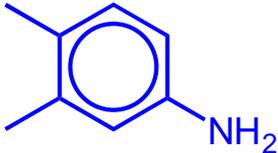
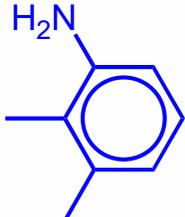
エンドポイント: 雌ラット、単回投与(24h)

対象物質: アルキルアニリン及び*p*-ハロゲン化アニリン類

$$\log\text{HBI} = -0.195 \text{ MINDOHF} + 1.31 \quad (n=19, r=-0.92, s=0.36)$$

MINDOHFは、対応するニトロニウムイオンの相対的安定性を表す。

表-3. ジメチルアニリン類のHBIの計算

No.	構造	アミンの MINDOHF (kcal/mol)	ニトロニウム イオンの MINDOHF (kcal/mol)	HBI計算値	28日間反復投与毒性試験 の用量200mg/kg/dayにお ける赤血球数の変動(%)
3		6.77	224.98	7.84	-26.4
4		9.43	226.09	1.49	-7.8
6		12.84	228.90	3.00	-13.3

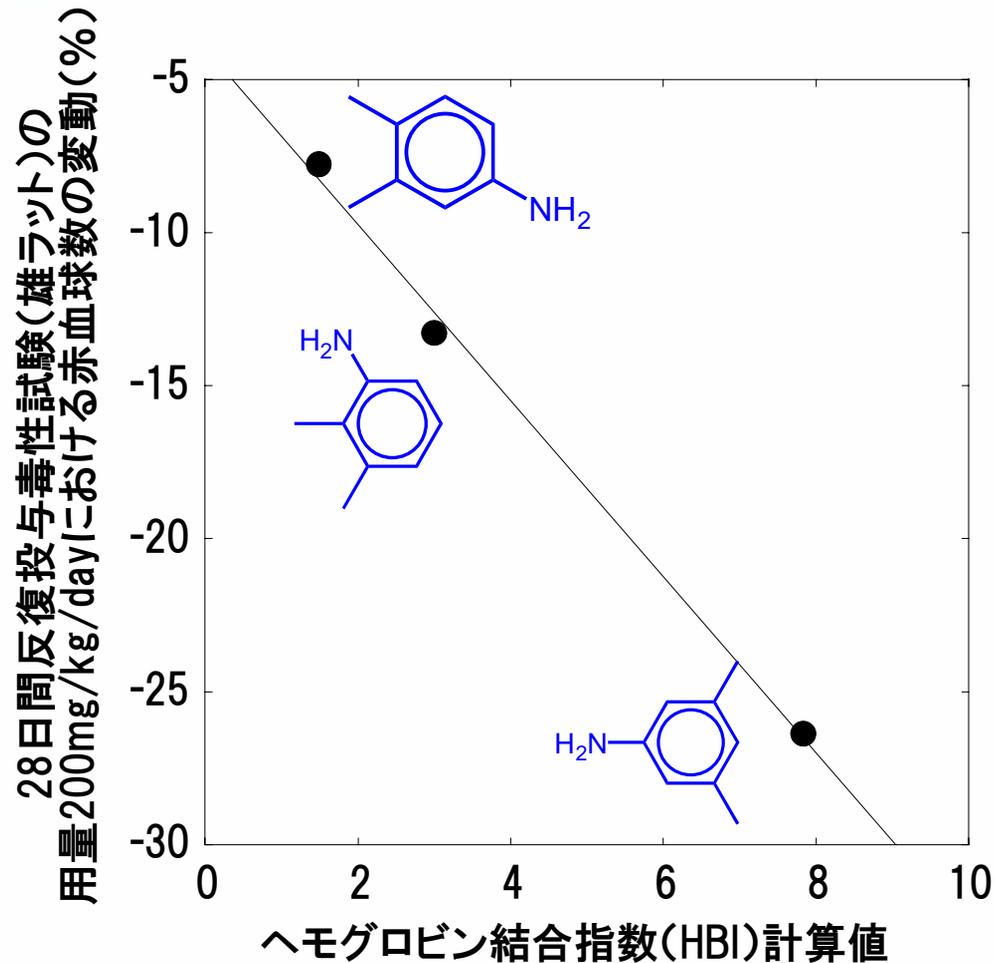
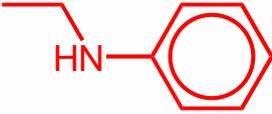


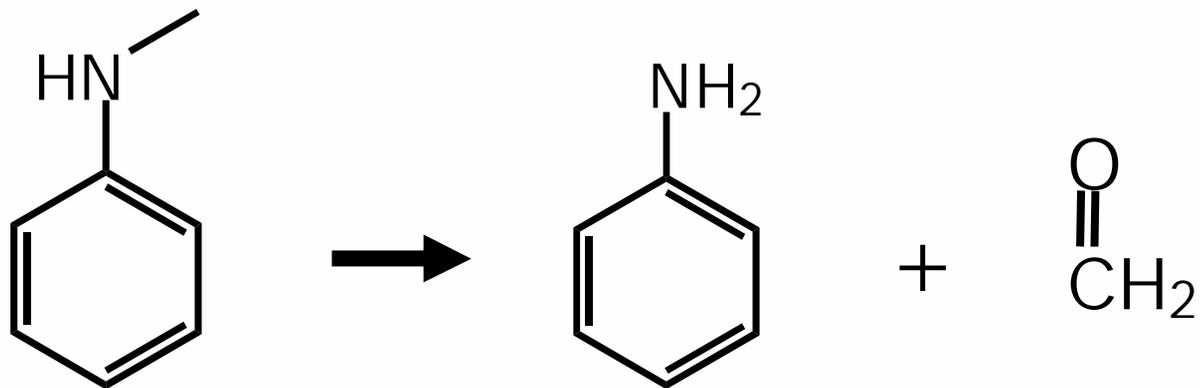
図-5. ジメチルアニリン類のHBI計算値と反復投与毒性試験結果との対応

表-4. *N*-アルキルアニリン類のHBIの計算

No.	構造	アミンの MINDOHF (kcal/mol)	ニトロニウム イオンの MINDOHF (kcal/mol)	HBI計算値	28日間反復投与毒性試験 の用量200mg/kg/dayにお ける赤血球数の変動(%)
1		18.75	228.80	0.20	-64.0
2		24.22	235.64	0.37	-62.4

in vitro, 雌ラット肝臓

R. Kato *et al.*, Jpn. J. Pharmacol., 19 (1969) 53 – 62



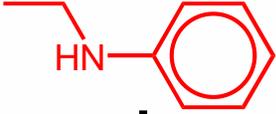
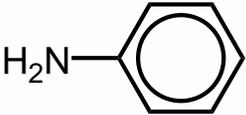
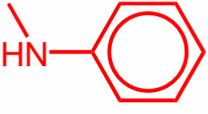
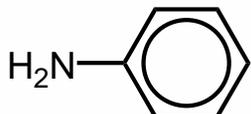
反復投与
毒性試験:

ラット28日間
5 mg/kg/day以上で
貧血所見を確認
(化審法既存点検)

ラット28日間
6 mg/kg/day以上で
貧血所見を確認
(EU Risk Assessment
Report)

ラット90日間
150 mg/kg/day以下
で貧血所見なし
[Johnnsen *et al.*, Toxicol. Lett.,
30 (1986) 1-6.]

表-5. *N*-アルキルアニリン類のHBIの計算(代謝物を想定)

No.	構造	アミンの MINDOHF (kcal/mol)	ニトロニウム イオンの MINDOHF (kcal/mol)	HBI計算値	28日間反復投与毒性の用 量200mg/kg/dayにおける 赤血球数の変動(%)
1		18.75	228.80	0.20	-64.0
		21.18	241.51	20.42	
2		24.22	235.64	0.37	-62.4
		21.18	241.51	20.42	

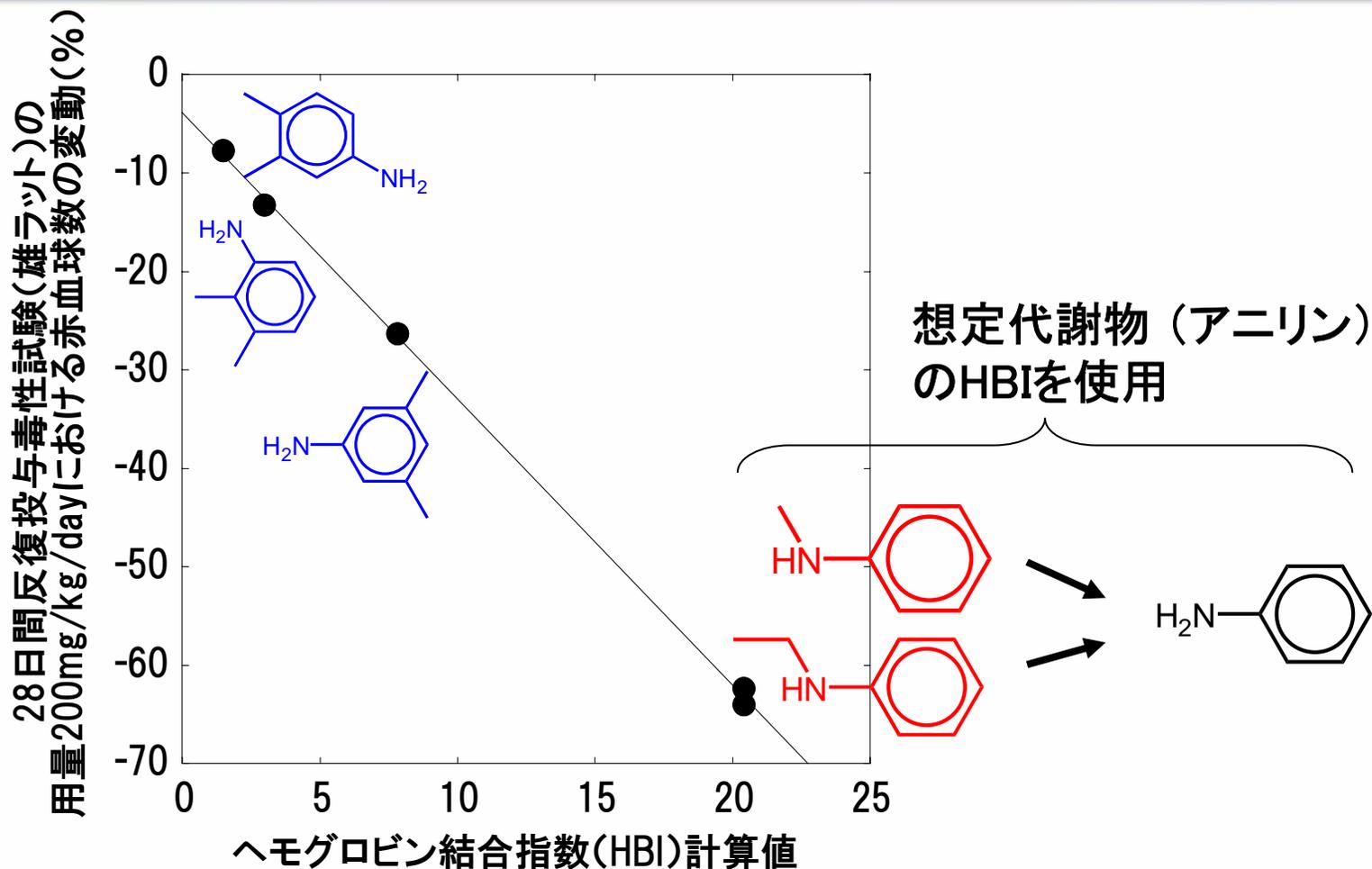


図-6. *N*-アルキルアニリン及びジメチルアニリン類の
HBI計算値と反復投与毒性試験結果との対応

まとめ

本研究開発項目では、反復投与毒性試験の所見を臓器毎に解析すると共に、収集した作用機序情報及び代謝情報を基に毒性の強さと構造との関連性を探索している。

本発表では、量子化学計算によるHBIによりアルキルアニリン類の血液毒性(赤血球数の減少)を予測できる可能性を明らかにした例、及び、その予測精度が代謝産物の推定により向上することを示した例について述べた。

他の物質群や他の臓器への影響についても同様の解析を行い、反復投与毒性を対象としたカテゴリー化の検討を進めている。