

インビボ毒性試験成績のデータベース化と そのインシリコ解析・評価への応用 に関する研究

吉成浩一

静岡県立大学薬学部

分担研究者：頭金正博（名古屋市立大学大学院薬学研究科）

分担研究者：山田隆志（国立医薬品食品衛生研究所）

- 農薬、食品添加物、器具・容器包装由来物質など、食品中化学物質の安全性評価は、国民衛生確保のための重要課題である。
- 化学物質の安全性評価は主に動物実験により行われているが、動物愛護・福祉の観点から、また製品開発の効率化、コストの面から、動物実験代替法の開発が求められている。
- 特に、評価対象物質数の膨大さ、化学合成の困難さから、既知の毒性情報を利用した、インシリコ手法への期待が大きい。

- インシリコ手法による安全性評価系の開発には多数の化学物質の高品質な毒性試験情報が必要である。
- 食品健康影響評価書は貴重な情報源となるが、その情報は体系的に整理されていない。
- 製品評価技術基盤機構により公開されている有害性評価支援システム統合プラットフォーム(HESS)は、化学物質の反復投与毒性データベース並びに毒性発現機序情報を搭載し、試験データのない物質についてDB中の類似物質の情報により毒性エンドポイントとその強度を類推可能な有用な国産のツールである。

- 食品健康影響評価書データをHESSに搭載してデータセットを拡充し、以下を実施する。
 - ① 重篤な毒性の機序や種差の解明
 - ② 毒性機序と化学構造に基づくカテゴリーの作成
 - ③ 毒性学的懸念の閾値 (Threshold of Toxicological Concern: TTC) の補助ツールとしての有用性を検証
 - ④ インシリコ毒性予測手法の開発

インシリコ手法による新たな食品中化学物質の安全性評価手法の確立を目指す。

1. 公開毒性試験成績のデータベース化

- ① 有害性評価支援システム統合プラットフォーム（HESS）のデータベース拡充
- ② 生殖発生毒性試験情報の収集と管理・検索システムの構築

2. データベースのインシリコ毒性予測・評価への応用

- ③ フタル酸エステル類の毒性学的特徴の解析
- ④ 反復投与毒性の種差の解析
- ⑤ 反復投与肝毒性と関連する化学構造の抽出
- ⑥ 肝毒性以外の反復投与毒性カテゴリーの拡充
- ⑦ 毒性学的懸念の閾値に関する解析
- ⑧ 機械学習法を用いた肝毒性予測モデルの構築

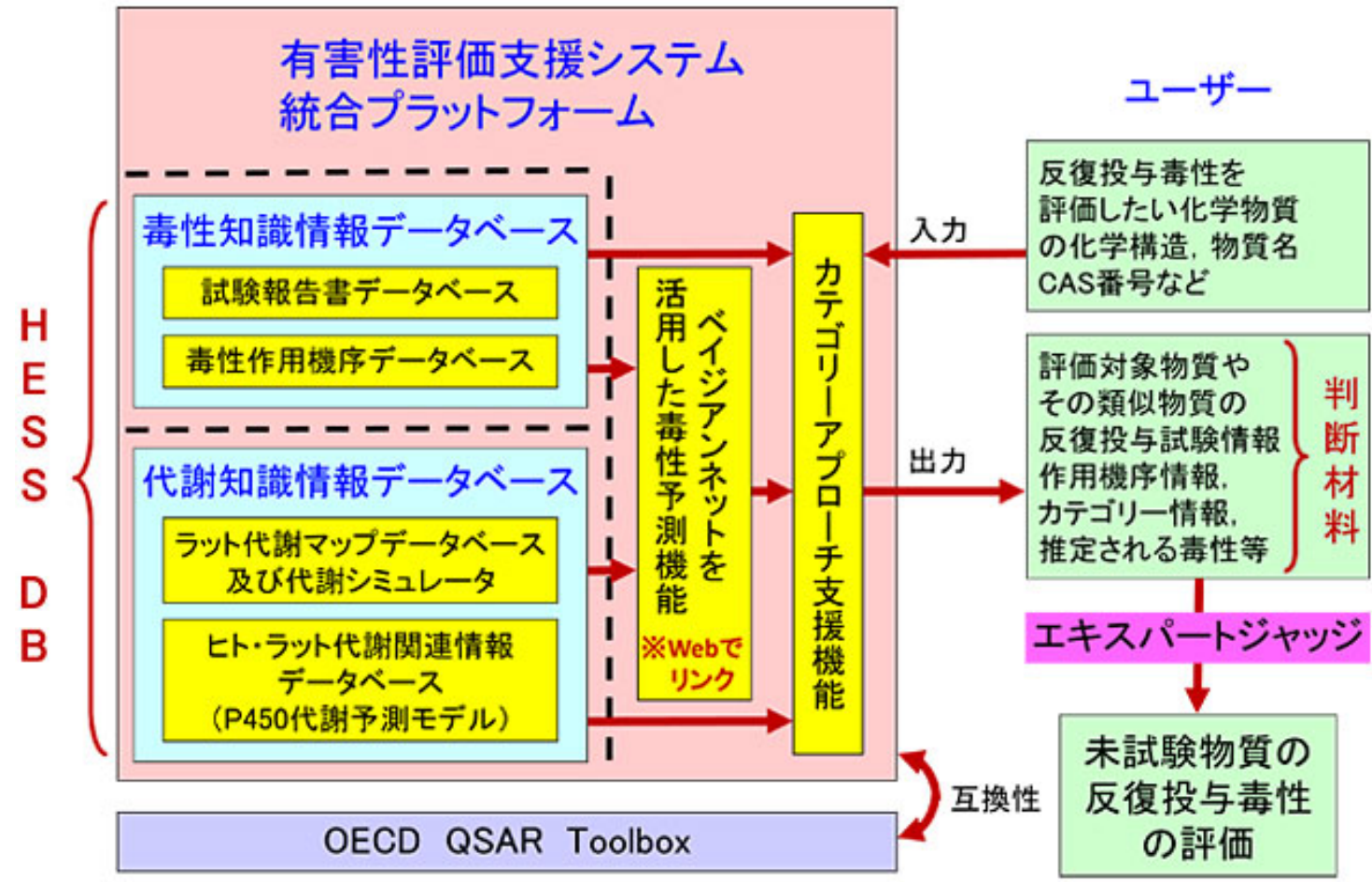
3. 毒性発現機序のインビボ・インビトロ検証試験

- ⑨ ラットインビボ毒性とP450反応性の関連性解析

1. 有害性評価支援システム統合プラットフォーム (HESS) のデータベース拡充
2. 生殖発生毒性試験情報の収集と管理・検索システムの構築
3. 毒性学的懸念の閾値 (TTC) に関する解析
4. 肝毒性と関連する物理化学的、生物学的特徴の同定

1. 有害性評価支援システム統合プラットフォーム (HESS) のデータベース拡充
2. 生殖発生毒性試験情報の収集と管理・検索システムの構築
3. 毒性学的懸念の閾値 (TTC) に関する解析
4. 肝毒性と関連する物理化学的、生物学的特徴の同定

有害性評価支援システム統合プラットフォーム: HESS



- 化学物質のラット反復投与毒性試験情報、毒性発現機序情報などを備えたシステム
- 化学物質間のデータの比較や化学物質の分子構造、物理化学的性質などによる化学物質の分類(カテゴリー化)を行うことを支援
- 未試験化学物質の反復投与毒性の評価を支援することが可能

食品健康影響評価書

10. 亜急性毒性試験.....

(1) 90日間亜急性毒性試験

(2) 90日間亜急性毒性試験

(3) 90日間亜急性毒性試験

(4) 28日間亜急性神経毒性試験

11. 慢性毒性試験及び発がん試験.....

(1) 2年間慢性毒性試験 (ラット)

(2) 1年間慢性毒性試験 (ラット)

(3) 2年間発がん性試験 (ラット)

(4) 21か月間発がん性試験 (ラット)

12. 生殖発生毒性試験.....

(1) 2世代繁殖試験 (ラット)

(2) 発生毒性試験 (ラット)

(3) 発生毒性試験 (ラット)

(4) 発生毒性試験 (ウサギ)

(5) 発生毒性試験 (ウサギ)

(6) 発生毒性試験 (ウサギ)

(7) 発生毒性試験 (ウサギ)

(8) 発生毒性試験 (ウサギ)

(9) 発生毒性試験 (経皮投与)

13. 遺伝毒性試験.....

表 17 90日間亜急性毒性試験 (ラット) で認められた毒性所見

投与群	雄	雌
3,000 ppm	<ul style="list-style-type: none"> 食餌効率減少 Hb、Ht、MCV、MCH、MCHC、平均赤血球直径、PLT 減少 ALP、AST、GGT 増加 限局性クッパー細胞色素沈着 脾髄外造血低下 白脾髄辺縁帯食細胞増生、白脾髄萎縮 APTT 短縮 脾比重量²増加、精巣絶対重量減少 前立腺及び精嚢の小型化 中等度の副腎皮質空胞化頻度増加 前胃/境界隆線部過形成/角化症増加 	<ul style="list-style-type: none"> 体重増加抑制、摂餌量減少、食餌効率減少 Ht、MCV、PLT、TG、Glu 減少 ALP、AST、β-Glob 増加 限局性クッパー細胞色素沈着 脾髄外造血低下 白脾髄辺縁帯食細胞増生、白脾髄萎縮 卵巣絶対重量減少 子宮壁萎縮性菲薄化 小葉中心性肝細胞肥大 ごく軽度の副腎皮質空胞化頻度増加 子宮萎縮
1,000 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> 体重増加抑制、摂餌量減少 肝絶対及び比重量増加 PT 延長 ALT 増加、T.Chol 減少 TG 減少 β-Glob 増加 小葉中心性肝細胞肥大 	<ul style="list-style-type: none"> 肝絶対及び比重量増加 Hb、MCH、MCHC、平均赤血球直径減少 GGT 増加 肝細胞脂肪化
300 ppm 以上	<ul style="list-style-type: none"> 肝細胞脂肪化 	<ul style="list-style-type: none"> 脾絶対及び比重量増加
100 ppm	毒性所見なし	毒性所見なし

HESSのデータベース拡充: 方法

食品健康影響 評価書



毒性徴候表

Registered number:	S3000-20001-C3018	
Cat. No.:	201314	
Chemical name:	1-saphthaleneacetic acid, sodium salt	
Study type:	90-day RDT	
Species:	Rat (SD)	
Sexes:	Oral (Feed)	
Solvent:	-	
Dose level:	7 doses (200, 2000, 8000)	
Dose unit:	ppm	
Purity:	-	
Findings:	Male	Female
NOEL:	200	200
NOAEL:	-	-
Death:	None	None
General signs:	-	-
Body weight:	Gain ↓ 8000	Gain ↓ 8000
Food consumption:	↓ 8000	↓ 8000
Water consumption:	-	-
FOB:	-	-
Uric analysis:	-	-
Hematology:	RBC ↓ 8000, HGB ↓ 8000, HCT ↓ 8000, PLT ↓ 8000, MCH ↑ 8000, MCH ↓ 8000	RBC ↓ 8000, HGB ↓ 2000, HCT ↓ 2000
Blood chemistry:	TP ↓ 8000, ALB ↓ 8000	-
Absolut organ weight:	-	Liver ↑ 8000
Relative organ weight:	Liver ↑ 8000	Liver ↑ 2000, Brain ↑ 2000
Necropsy:	Kidney ↑ 2000	Liver: Hypertrophy, hepatocyte 8000; Liver: Vacuolization, hepatocyte 2000
Histopathology:	Liver: Hypertrophy, hepatocyte 8000; Adrenal: Zona glomerulosa, hypertrophy 8000; Urinary bladder: Hypertrophy, mucosal epithelium 8000	Liver: Hypertrophy, hepatocyte 8000; Liver: Vacuolization, hepatocyte 2000; Adrenal: Zona glomerulosa, hypertrophy 2000; Urinary bladder: Hypertrophy, mucosal epithelium 8000

データ入力シート

CAS No.	41083-11-8	41083-11-8	41083-11-8	41083-11-8
Name	azocyclotin	azocyclotin	azocyclotin	azocyclotin
Chemical No. (Link to HESS DB)	8032	8032	8032	8032
Report No.	1	1	1	1
Study No. (Link to SGRDT)	8140	8140	8140	8140
Route	Oral (Feed)	Oral (Feed)	Oral (Feed)	Oral (Feed)
Species	Rat	Rat	Rat	Rat
Strain	Wistar	Wistar	Wistar	Wistar
Gender	Male	Male	Female	Female
Test group	Main	Main	Main	Main
Administration period	90D	90D	90D	90D
Dose unit	ppm	ppm	ppm	ppm
Min dose	5	10	10	10
Max dose	150	100	100	100
Comment	Sppm=0.41/2, 0.48/2, 1.50ppm1.24/2, 1.40			
Parameter (NOEL/LOEL)	NOEL	LOEL	NOEL	LOEL
Findings	NOEL	LOEL	NOEL	LOEL
Total	15	50	15	50
Death	50	150	50	150
Body weight ↑				
Body weight ↓	15	50	15	50
Food consumption ↑				
Food consumption ↓	15	50	15	50
Water consumption ↑				
Water consumption ↓				
Hypothermia				
Hypothermia				
Coma				
Emaciation				
Abnormal breathing				
Vocalization				
Abnormal body position				
Abnormal gait				
Abnormal behavior				
Strab. tail				
Locomotor activity ↑				
Locomotor activity ↓	50	150	50	150
Tremor/Convulsion				
Muscle tone ↓				
Abnormal appearance				
Cyanosis or pale skin				
Abnormal fur				
Piloerection				
Salivation				
Prosis/Palpebral closure				
Lacrimation				
Miosis				
Mydriasis				
Diarrhea/Loose stool/Bloody stool				
Abnormal sensory response				
Abnormal response in handling				
Other findings				
Hypothermia				
Hypothermia				
Coma				
emaciation				
Abnormal breathing				
Vocalization				
Abnormal body position				
Abnormal gait				
Abnormal behavior				
Strab. tail				
Locomotor activity ↑				
Locomotor activity ↓				
Tremor/Convulsion				
Muscle strength				
Muscle tone ↓				
Abnormal appearance				
Cyanosis or pale skin				

物質情報

試験情報

毒性所見
(~500)

雄

雌

毒性所見が現れた
用量(LOEL値)を
入力

LOELの1つ下の用
量(NOEL値)を入
力



インポート



OECD QSAR Toolboxへもインポート可能

HESSの活用方法

A

B

C

D

- 我が国で開発された有害性評価支援システム統合プラットフォーム（HESS）に、食品安全委員会で公開されている食品健康影響評価書のラット反復投与毒性試験情報を搭載した。
- 食品安全委員会における食品中化学物質の安全性評価に有用なツールとなると期待される。

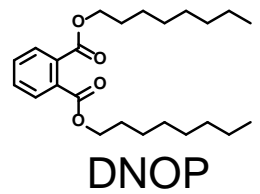
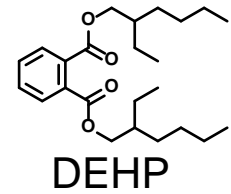
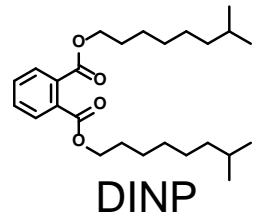
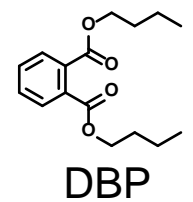
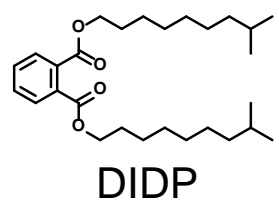
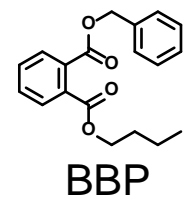
1. 有害性評価支援システム統合プラットフォーム (HESS) のデータベース拡充
2. 生殖発生毒性試験情報の収集と管理・検索システムの構築
3. 毒性学的懸念の閾値 (TTC) に関する解析
4. 肝毒性と関連する物理化学的、生物学的特徴の同定

- 食品用の器具及び容器包装は、食品衛生法において規格基準等が定められている。
- その原材料については、安全性が評価され使用が認められた物質以外は、原則使用が禁止されるポジティブリスト制度の導入が進められている。
- ポリカーボネートから溶出されるビスフェノール A、並びにフタル酸エステル等のプラスチック可塑剤で生殖・発生毒性の懸念が報告されている。

器具・容器包装関連物質

▶ フタル酸エステル類6剤

	略称	正式名称
1	BBP	フタル酸ベンジルブチル
2	DBP	フタル酸ジブチル
3	DEHP	フタル酸ビス(2-エチルヘキシル)
4	DIDP	フタル酸ジイソデシル
5	DINP	フタル酸ジイソノニル
6	DNOP	フタル酸ジオクチル



▶ **ポリ乳酸を主成分とする合成樹脂製の器具又は容器包装**
 ポリ乳酸、ラクチド、2-エチルヘキサン酸、スズ

▶ **ポリエチレンナフタレート(PEN)を主成分とする合成樹脂製の器具又は容器包装**
 2,6-ナフタレンジカルボン酸ジメチル、エチレングリコール、テレフタル酸ジメチル、ジエチレングリコール、シクロヘキサンジメタノール、アンチモン、二酸化ゲルマニウム、ゲルマン酸ナトリウム、二酸化チタン

▶ **再生PET及び溶出物質**

生殖・発生毒性試験情報の収集と整理

- 器具・容器包装評価書および関連する文献情報
- 一世代試験、二世代試験、発生試験
- 動物種、系統、雌雄、投与量、全毒性所見、各所見のLOAEL/NOAELの情報、文献の信頼度等を抽出
- Excelシートに入力
- 合計9剤、91試験
 - ✓ フタル酸エステル類(6剤)・・・79試験
BBP:17試験、DBP:29試験、DEHP:22試験、DIDP:5試験、DINP:4試験、DNOP:2試験
 - ✓ ポリ乳酸・・・3試験
 - ✓ ポリエチレンナフタレート・・・9試験
 - ✓ 再生PETの溶出物質・・・0試験

生殖・発生毒性試験情報の収集と整理(続き)

- 医薬品の生殖発生毒性試験に係るガイドラインを参考にし、「一世代生殖毒性」、「二世代生殖毒性」、「発生毒性」の3つに分けた。
- 入力した試験数
 - ✓ 一世代: 5試験、二世代: 12試験、発生: 62試験
- 発生試験に関してはさらにA~Fの6つの期間に分けた。
 - A: 交尾前~受精
 - B: 受精~着床
 - C: 着床~硬口蓋閉鎖
 - D: 硬口蓋閉鎖~妊娠終了
 - E: 出生~離乳
 - F: 離乳~性成熟

◆ 試験情報の例

物質名	BBP
CAS番号	85-68-7
試験の種類	一世代
文献情報	TNO NaFRI, 1993
動物種	ラット
系統	Wistar
投与方法	経口
NOAEL	418 mg/kg/day
LOAEL	690 mg/kg/day
親動物/児動物	P(F0)
性別	雄
投与量	100 mg/kg/day

■ 試験情報と毒性情報を入力

生殖・発生毒性試験の毒性所見

体重	
交配前	増加 減少
妊娠期	増加 減少
授乳期	増加 減少
その他	
体重増加	
交配前	増加 減少
妊娠期	増加 減少
授乳期	増加 減少
その他	
摂餌量	
交配前	増加 減少
妊娠期	増加 減少
授乳期	増加 減少
その他	

一般状態の異常		
例) 流産、死亡など		
器官重量		
子宮	絶対重量	増加 減少
	相対重量	増加 減少
卵巣	絶対重量	増加 減少
	相対重量	増加 減少
精巣	絶対重量	増加 減少
	相対重量	増加 減少
精巣上体	絶対重量	増加 減少
	相対重量	増加 減少
前立腺	絶対重量	増加 減少
	相対重量	増加 減少
精嚢	絶対重量	増加 減少
	相対重量	増加 減少

脳	絶対重量	増加 減少
	相対重量	増加 減少
肝臓	絶対重量	増加 減少
	相対重量	増加 減少
腎臓	絶対重量	増加 減少
	相対重量	増加 減少
脾臓	絶対重量	増加 減少
	相対重量	増加 減少
下垂体	絶対重量	増加 減少
	相対重量	増加 減少
甲状腺	絶対重量	増加 減少
	相対重量	増加 減少
副腎	絶対重量	増加 減少
	相対重量	増加 減少

生殖・発生毒性試験の毒性所見(続き)

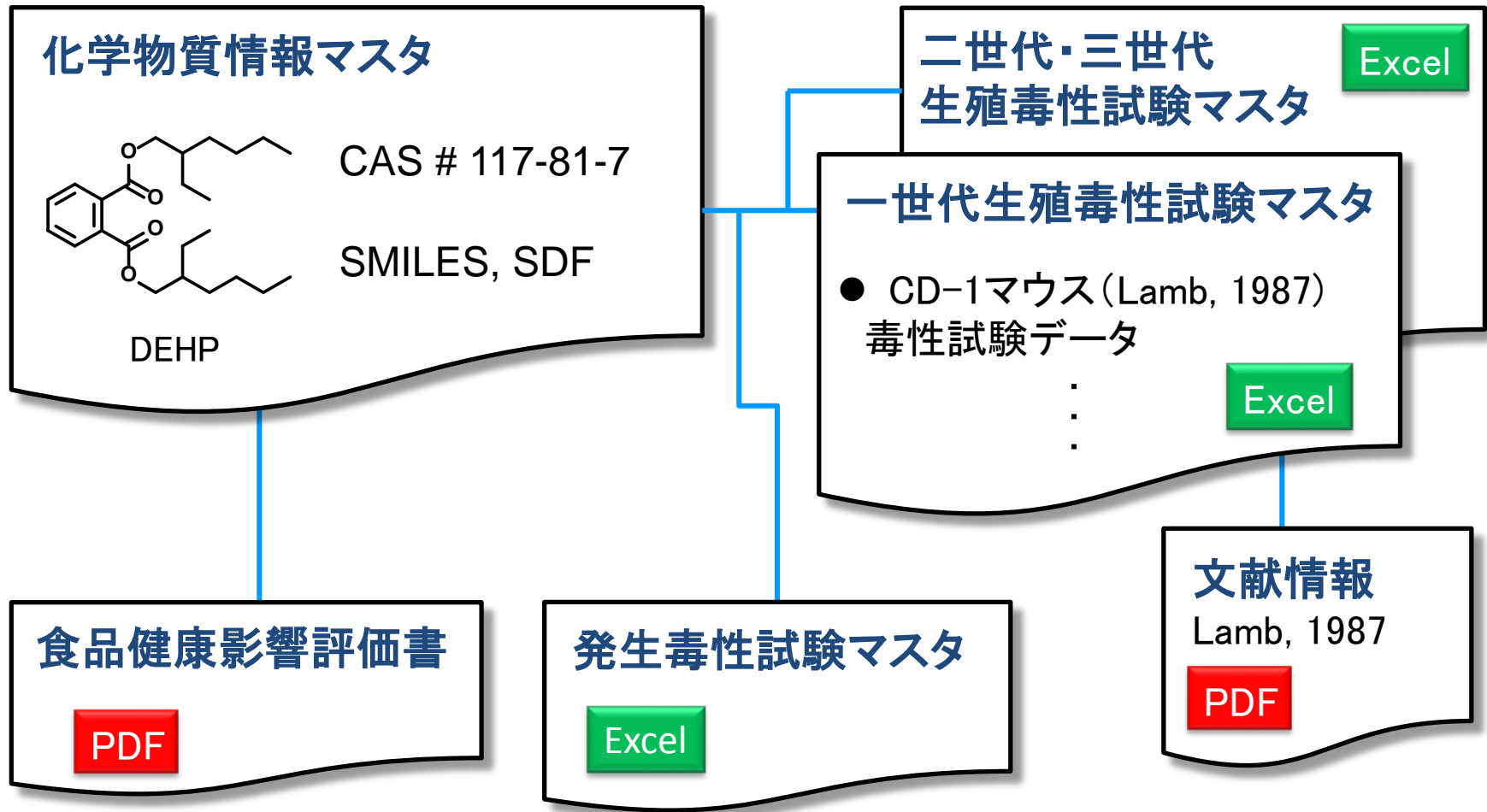
剖検所見	
(例)	精巣矮小、精巣の軟化
病理組織所見	
(例)	精母細胞形成遅延
血液学的検査	
(例)	白血球数、赤血球数
血液生化学的検査	
(例)	コレステロール、ALT、AST

出生児検査		
出生児生存数	増加	減少
出生児生存率	増加	減少
性比の異常		
外表異常		
肛門・生殖間距離 (AGD)	増加	減少
その他		

繁殖能力		
性周期	延長	短縮
	不規則	
精子検査	精子数減少	運動能減少
	形態異常	
交尾率	増加	減少
受胎率	増加	減少
妊娠率	増加	減少
妊娠期間	延長	短縮
着床数	増加	減少
出産率	増加	減少
その他		

生殖・発生毒性試験情報のデータベース化

■ **FileMaker** (リレーショナルデータベースシステム作成ソフト) を使用



生殖・発生毒性試験情報のデータベース化(続き)

■ ユーザーインターフェース

FileMaker Pro - [毒性試験DB]

ファイル(F) 編集(E) 表示(V) 挿入(I) 書式(M) レコード(R) スクリプト(S) ウィンドウ(W) ヘルプ(H)

2 3 / 4
該当件数 (未ソート)
レコード

すべてを表示 新規レコード レコード削除 検索

レイアウト: 基本画面 表示方法の切り替え: [アイコン] プレビュー

毒性試験データベース

No. 1 CAS No. 68515-49-1/26761-40-0

一般名 フタル酸ジイソデシル 略称 DIDP

英名 Di-isodecyl phthalate

構造式



PDF
フタル酸ジイソデシルのTIDP器目録

一世代 二世代 発生

FileMaker Pro - [毒性試験DB]

ファイル(F) 編集(E) 表示(V) 挿入(I) 書式(M) レコード(R) スクリプト(S) ウィンドウ(W) ヘルプ(H)

2 3 / 4
該当件数 (未ソート)
レコード

すべてを表示 新規レコード レコード削除 検索 ソート 共有

レイアウト: 二世代 表示方法の切り替え: [アイコン] プレビュー

二世代試験

No. 1

一般名 フタル酸ジイソデシル 略称 DIDP

二世代試験情報

DIDPSDラットStudyA.xlsx	Hushka 2001	24_Hushkaら (2001) .pdf
DIDPSDラットStudyB.xlsx	Hushka 2001	24_Hushkaら (2001) .pdf

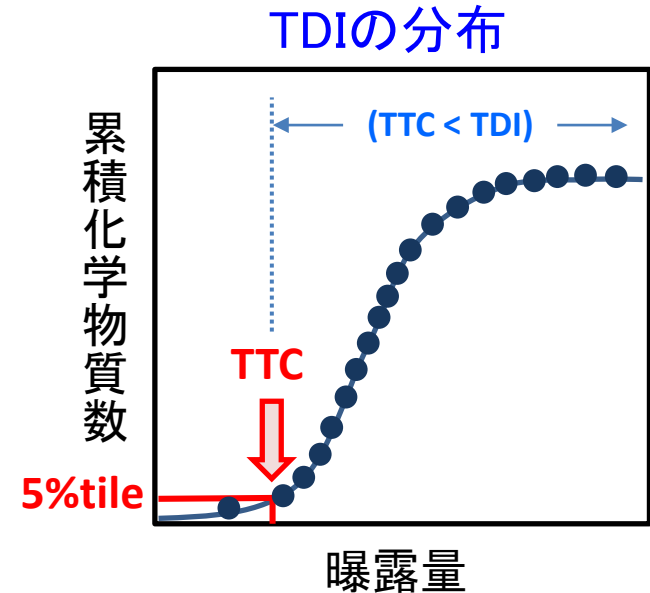
BACK

- 食品安全委員会で公開されている器具容器包装評価書等を利用して、フタル酸エステル類等の生殖発生毒性試験情報を収集し、Microsoft ExcelやFileMakerを利用したデータベースを作成した。
- 食品安全委員会における食品中化学物質の安全性評価に有用なツールとなると期待される。

1. 有害性評価支援システム統合プラットフォーム (HESS) のデータベース拡充
2. 生殖発生毒性試験情報の収集と管理・検索システムの構築
3. 毒性学的懸念の閾値 (TTC) に関する解析
4. 肝毒性と関連する物理化学的、生物学的特徴の同定

毒性学的懸念の閾値 Threshold of Toxicological Concern (TTC)

- 毒性学的懸念の閾値 (TTC) は、あらゆる化学物質について**それ以下の曝露量では明らかな有害影響が現れないとするヒト曝露の閾値**として設定される。
- 香料や食品包装材料物質など、多くの物質で**毒性学的情報は極めて限られているが、曝露量が通常極めて低く、多くの機能的に同類の物質を含む化学物質群を包括的に評価**するために、TTCが有用であると考えられている。
- 発がんTTC (1.5 $\mu\text{g}/\text{人}/\text{day}$) と**非発がんTTC (90 $\mu\text{g}/\text{人}/\text{day}$)**が提案されている。



TDI (Tolerable Daily Intake)
耐容一日摂取量.

HESSの反復投与毒性試験データを活用して、非発がんTTCを検証する。

TTCの解析:方法

■ 使用データ:HESS データベース

- 主に化審法既存点検化学物質
- 投与ルート:経口
- 投与期間:28-90 日
- 大半の試験はGLP基準で実施
- 1物質で複数の試験データ→低いNOEL値を採用
- 732物質/732試験

■ 解析方法

- 化学構造→ Cramer分類
- ppm→mg/kg体重/日に変換
- $TDI = NO(A)EL / \text{不確実係数} UF *$

*UF:種差・個体差:100

試験期間:28-50日間→6、90日間→2を追加

LOELを用いる場合→10を追加

Cramer分類

クラス I

単純な化学構造をもつ物質で、効率的な代謝機序を有し、経口毒性が低いと考えられるもの

クラス II

クラス I とクラス III の中間物質。クラス I ほど無害性は低くない構造をもつが、クラス III のような毒性を示唆する構造特性を持たない物質

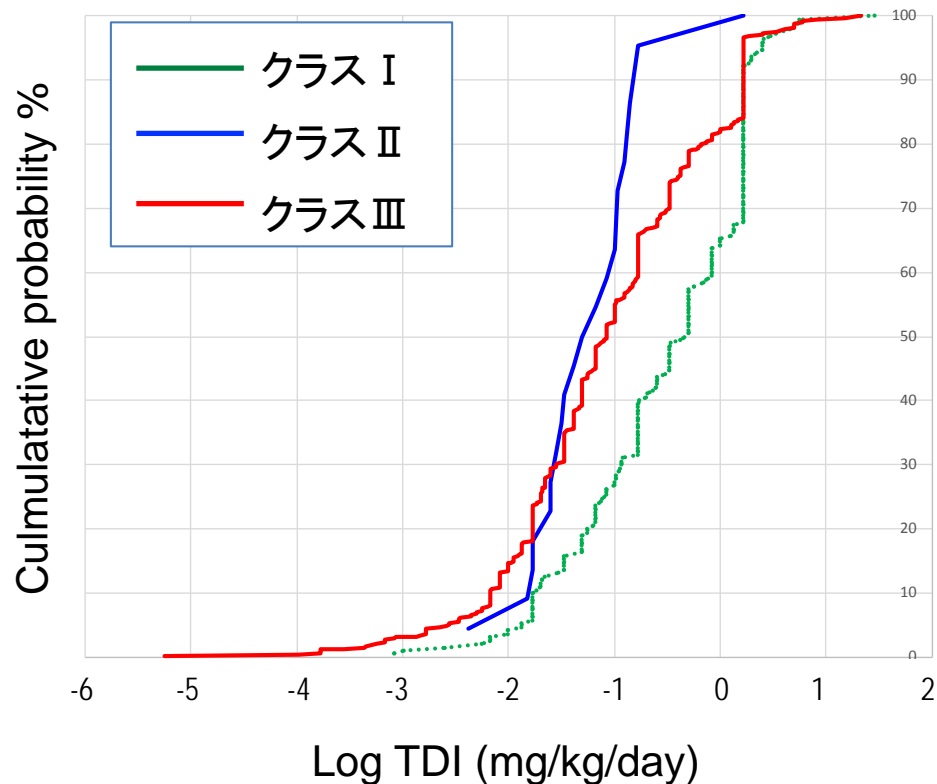
クラス III

初期評価で安全であるという強い根拠は全くないか、あるいは顕著な毒性を示唆する化学構造を有する物質

Cramer et al., *Food Cosmet Toxicol.* 16:255-276, 1978.

除外物質: アフラトキシン様化合物、アゾキシ化合物、*N*-ニトロソ化合物、ダイオキシン類、ステロイド類(強力な発がん性)、ポリハロゲン化ダイオキシン類、重金属類(体内での蓄積)、非必須金属(元素、イオン、それらの有機体)、タンパク質(解析対象となっていないため)、ホルモン用物質(低用量影響が不明)

TTCの解析: 結果及び考察



- HESSのTTC値は、クラスⅢではMunroの値と同程度であったが、クラスⅠでは他のデータベースの値に比べてやや低値を示した。
- 化審法既存化学物質点検事業では、毒性学的懸念が高い物質が優先評価されてきたことが一因と考えられる。

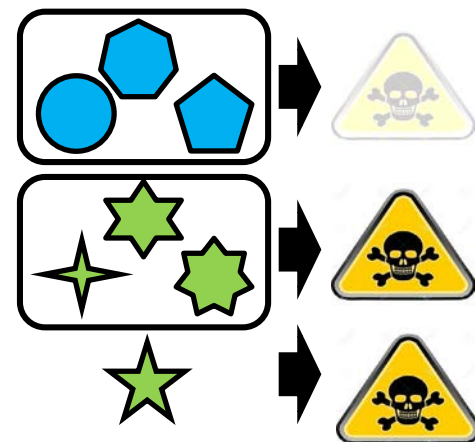
非発がんTTC値 (μg/人/日)

データベース	クラス I	クラス II	クラス III
HESS	800 (N=190)	348 (N=22)	166 (N=520)
Munro	1800 (N=137)	546 (N=28)	90 (N=448)
COSMOS	2500 (N=219)	350 (N=40)	470 (N=293)

1. 有害性評価支援システム統合プラットフォーム (HESS) のデータベース拡充
2. 生殖発生毒性試験情報の収集と管理・検索システムの構築
3. 毒性学的懸念の閾値 (TTC) に関する解析
4. 肝毒性と関連する物理化学的、生物学的特徴の同定

カテゴリー(グルーピング)アプローチ

- 化学構造や生物学的特徴が類似した化学物質群をグルーピングして評価する方法
- 同じグループに属する物質の毒性データを用いて、毒性データがない物質の毒性を予測



目的

- HESSや食品健康影響評価書の毒性試験情報を活用して、肝毒性と関連する化学構造的特徴、生物学的特徴を同定する。
- カテゴリーアプローチによる化学物質の安全性評価に有用な情報を取得する。

決定木分析

- 結果(目的変数又は従属変数)に影響する様々な要因(説明変数)を分析して、サンプルを分類する手法の1つ

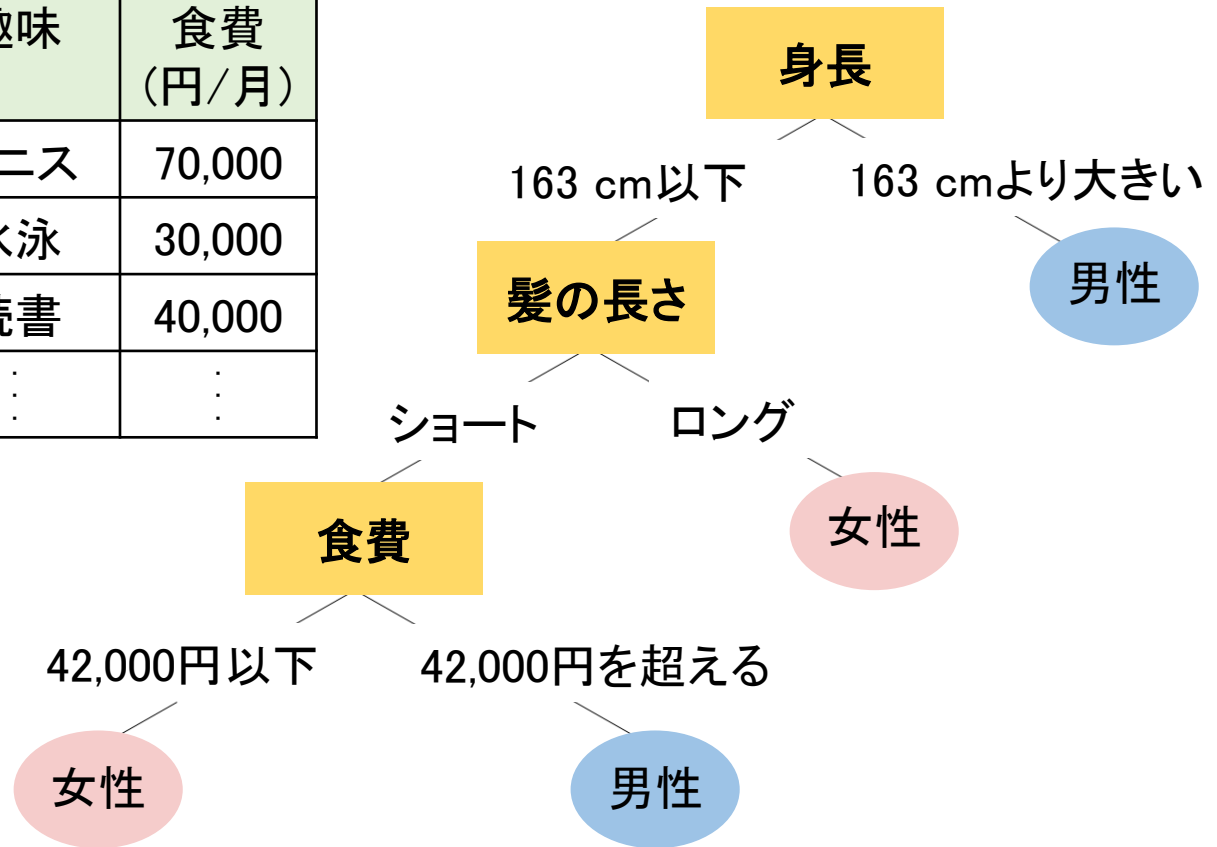
例

属性	身長 (cm)	髪の毛の長さ	趣味	食費 (円/月)
男	184	ショート	テニス	70,000
女	155	ロング	水泳	30,000
女	152	ロング	読書	40,000
⋮	⋮	⋮	⋮	⋮

問題:短髪で身長160cm、食費に1月5万円使う人は男性か女性か？

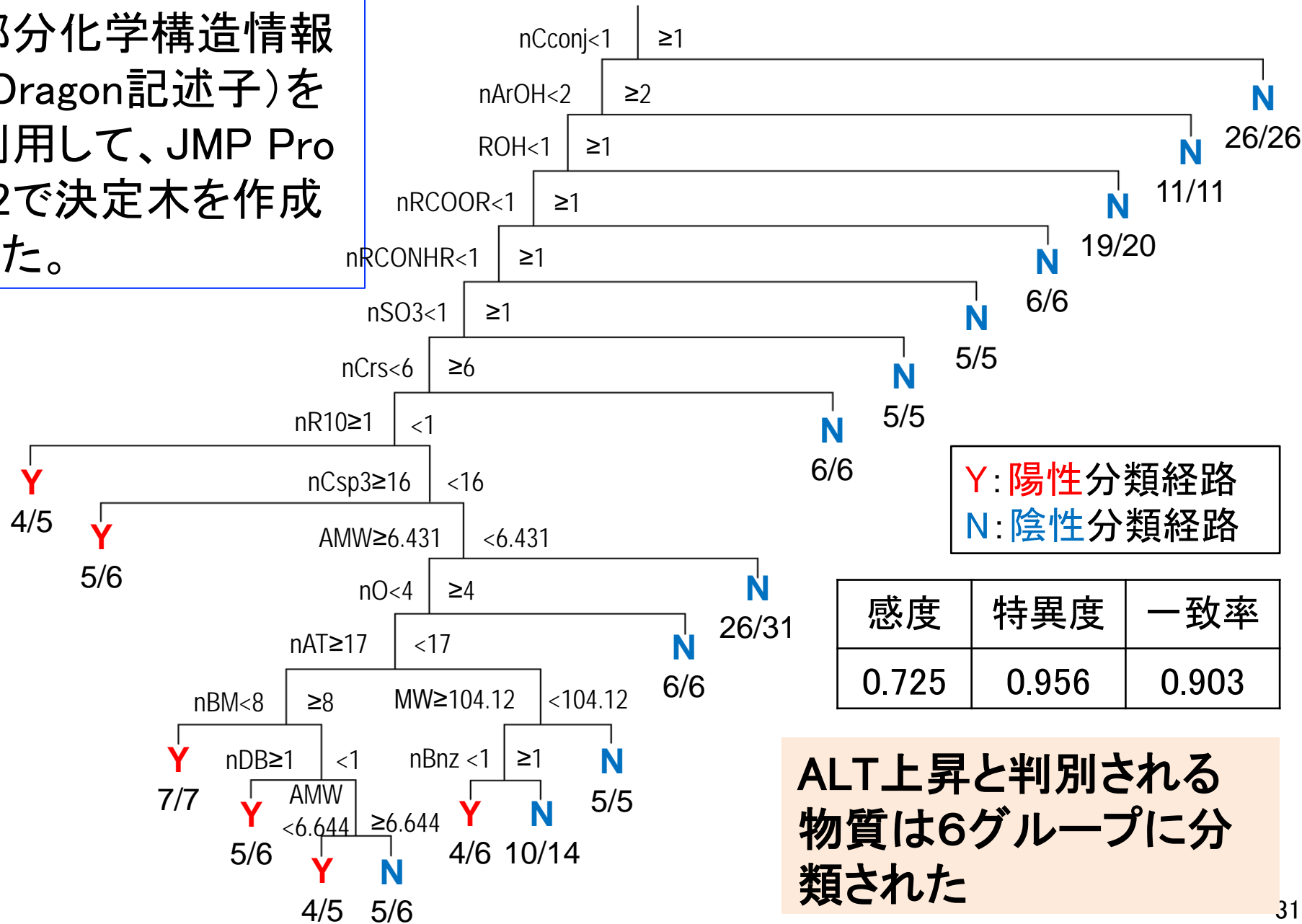


男性



決定木解析によるALT上昇陽性物質の分類

部分化学構造情報 (Dragon記述子) を利用して、JMP Pro 12で決定木を作成した。



Y: 陽性分類経路
N: 陰性分類経路

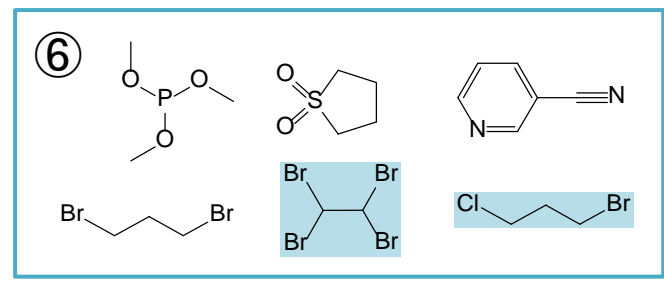
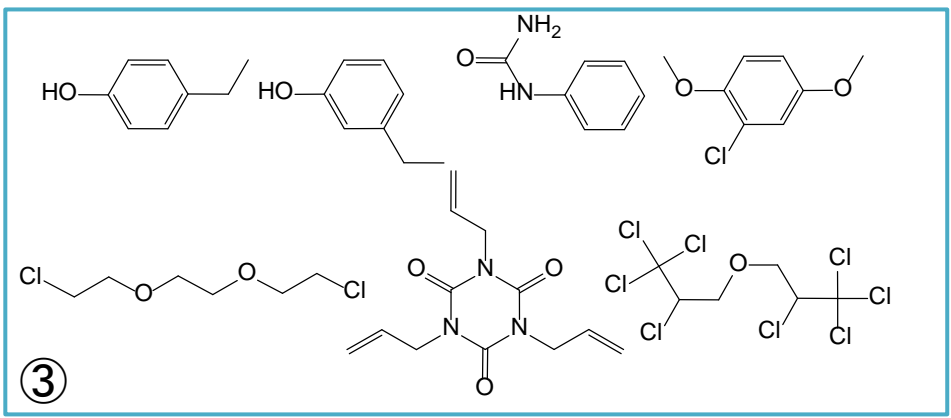
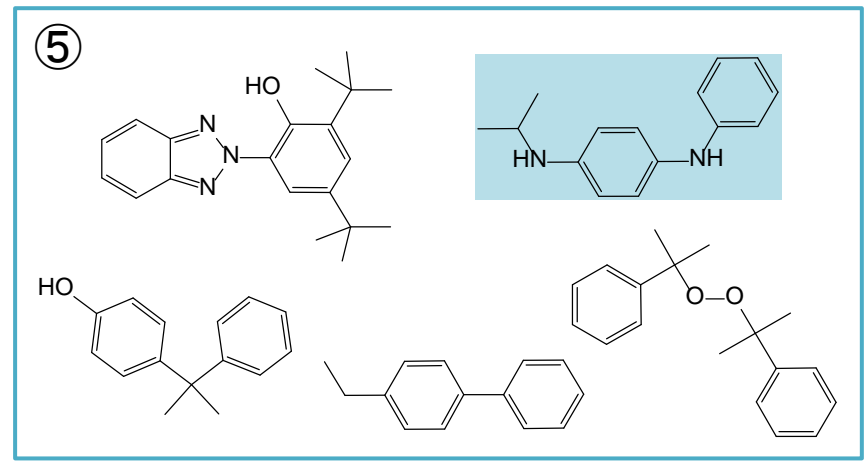
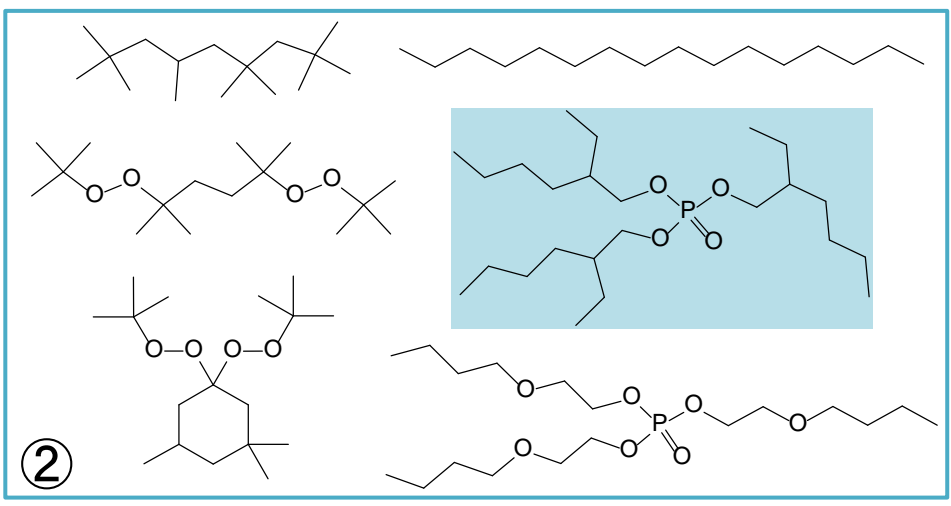
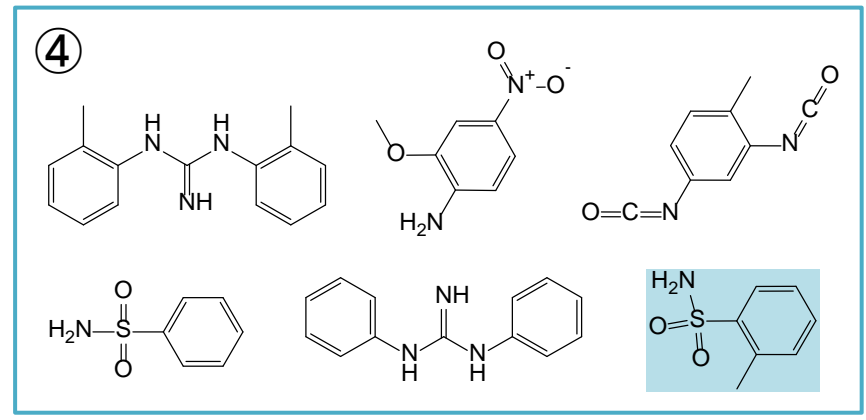
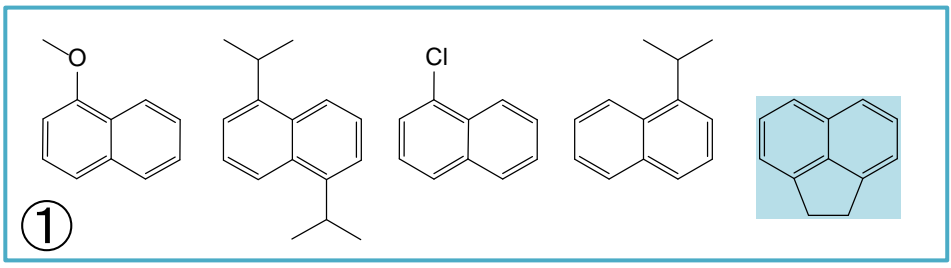
感度	特異度	一致率
0.725	0.956	0.903

ALT上昇と判別される物質は6グループに分類された

ALT上昇陽性と判定された物質のグループ

グループ1には**ナフタレン骨格**を有する物質のみが含まれていた。

偽陽性



食品健康影響評価書を用いた解析:結果

見出した部分化学構造と毒性所見の関連性

● 90日間試験

- ピラゾール環 — 肝機能低下 (オッズ比:3.36)
- ピラゾール環 — 肥大 (オッズ比:2.99)
- トリアゾール環 — 胆管系障害 (オッズ比:3.06)
- シアノ基 — 過形成 (オッズ比:4.47)
- シアノ基 — 脂肪化 (オッズ比:2.02)
- シアノ基 — 肥大 (オッズ比:2.79)

● 2年間試験

- ピラゾール環 — 脂質代謝異常 (オッズ比:3.01)
- ピラゾール環 — 肝機能亢進 (オッズ比:2.96)
- ピラゾール環 — 肥大 (オッズ比:2.50)
- ピラゾール環 — 変異細胞巢 (オッズ比:2.96)
- トリアゾール環 — 脂肪化 (オッズ比:5.33)
- トリアゾール環 — 肝機能亢進 (オッズ比:2.30)
- トリアゾール環 — 肥大 (オッズ比:2.70)
- シアノ基 — 脂質代謝異常 (オッズ比:2.65)
- シアノ基 — 肥大 (オッズ比:3.31)

シトクロムP450反応性と毒性発現：背景

- 薬物代謝は化学物質の解毒及び毒性発現を規定する重要な因子の一つである。
- 肝毒性の発現にはしばしば代謝物（代謝活性化）が関与する。
- 薬物代謝酵素は、基質特性の異なる多数の分子種からなり、1つの酵素が特異的な化学構造の物質を認識する。

代表的な薬物代謝酵素であるシトクロムP450との反応性と毒性発現との関連性を解析し、その毒性予測への有用性を検討した。

P450反応性と反復投与毒性との関連性解析: 結果

- 方法**
- 発光基質を利用したP450-Glo™ assay system (Promega)を使用し、120物質のP450反応性をインビトロ試験で評価
 - 食品健康影響評価書のラット90日間反復投与毒性試験における主要な所見との関連性をカイニ乗検定により解析
- $P < 0.05$

P450 分子種		肝				甲状腺		血液生化学					腎	脾臓	血液学					体重	外観/行動		
		絶対重量増加	相対重量増加	小葉中心性 肝細胞肥大	小葉びまん性 肝細胞肥大	絶対重量増加	相対重量増加	総タンパク質 減少	グロブリン減少	γ-GTP増加	コレステロール 増加	中性脂肪減少	絶対重量増加	相対重量増加	重量増加	網状赤血球 増加	Hb濃度減少	Ht値減少	MCH減少	MCV減少	増加抑制	摂餌量減少	摂餌量減少
Human	1A1	0.012	0.026	0.074	0.410	0.020	0.020	0.013	0.030	0.001	0.098	0.506	0.736	0.337	0.368	0.592	0.337	0.419	0.486	0.608	0.847	0.528	0.218
	1A2	0.852	0.493	0.190	0.910	0.864	0.689	0.517	0.677	0.020	0.489	0.947	0.517	0.164	0.666	0.689	0.487	0.592	0.644	0.623	0.447	0.595	0.218
	1B1	0.781	0.677	0.145	0.694	0.711	0.842	0.452	0.629	0.002	0.383	0.718	0.830	0.334	0.390	0.131	0.018	0.070	0.192	0.462	0.010	0.028	0.608
	2B6	0.206	0.536	0.933	0.034	0.947	0.947	0.642	0.836	0.027	0.487	0.751	0.092	0.271	0.543	0.101	0.968	0.207	0.557	0.121	0.187	0.467	0.095
	2C8	0.419	0.363	0.827	0.806	0.901	0.457	0.101	0.035	0.646	0.596	0.365	0.197	0.580	0.907	0.047	0.713	0.966	0.738	0.285	0.167	0.282	0.703
	2C9	0.081	0.133	0.458	0.705	0.078	0.236	0.097	0.164	0.033	0.182	0.103	0.033	0.455	0.112	0.267	0.170	0.048	0.918	0.410	0.173	0.102	0.373
	2C19	0.049	0.038	0.103	0.660	0.070	0.070	0.006	0.246	0.003	0.286	0.235	0.400	0.452	0.149	0.464	0.221	0.603	0.264	0.170	0.672	0.616	0.035
	2D6	0.052	0.608	0.164	0.790	0.003	0.016	0.146	0.208	0.135	0.632	0.096	0.856	0.374	0.468	0.923	0.040	0.151	0.001	0.005	0.351	0.339	0.642
3A4	0.058	0.001	0.853	0.023	0.498	0.211	0.296	0.187	0.008	0.419	0.198	0.028	0.040	0.264	0.298	0.508	0.892	0.129	0.162	0.813	0.475	0.189	
Rat	1A1	0.012	0.015	0.163	0.454	0.089	0.089	0.003	0.049	0.001	0.198	0.324	0.191	0.973	0.191	0.689	0.360	0.801	0.704	0.926	0.806	0.920	0.533
	1A2	0.632	0.845	0.629	0.648	0.215	0.061	0.361	0.444	0.815	0.016	0.024	0.361	0.375	0.781	0.983	0.777	0.821	0.610	0.717	0.129	0.003	0.732
	2B1	0.082	0.493	0.595	0.081	0.042	0.148	0.133	0.525	0.040	0.126	0.849	0.072	0.364	0.486	0.143	0.356	0.837	0.110	0.155	0.698	0.968	0.068
	2C6	0.150	0.180	0.256	0.112	0.315	0.315	0.037	0.242	0.074	0.316	0.643	0.448	0.679	0.849	0.159	0.509	0.780	0.588	0.225	0.665	0.606	0.052
	2D1	0.604	0.641	0.049	0.950	0.924	0.924	0.400	0.938	0.288	0.015	0.207	0.810	0.752	0.030	0.588	0.420	0.065	0.587	0.784	0.672	0.751	0.900
	2E1	0.169	0.122	0.852	0.144	0.460	0.460	0.425	0.442	1.000	0.328	0.273	0.425	0.158	0.425	0.460	0.103	0.174	0.393	0.363	0.305	0.325	0.610
	3A2	0.003	0.003	0.118	0.266	0.315	0.688	0.037	0.079	0.025	0.316	0.354	0.184	0.215	0.184	0.688	0.290	0.576	0.104	0.166	1.000	0.302	0.157

特定のP450分子種と毒性所見との間に有意な関連性が認められた。

- 化学構造と反復投与毒性の関連性を解析し、以下の関連性を見出した。
 - ラット**肝障害**（血中ALTレベル上昇）と、**ナフタレン骨格**かつ脂溶性や特定の分子構造、表面電荷条件との関連性
 - **ピラゾール環**、**トリアゾール環**、**シアノ基**とラット肝毒性との関連性
 - 薬物代謝酵素**シトクロムP450**との反応性と反復投与毒性との関連性
- カテゴリーアプローチ手法による安全性評価に有用な知見を提供できた。

- 食品健康影響評価書データをHESSへ搭載してデータセットを拡充した。また、生殖・発生毒性試験情報のデータベースを作成した。
- 上記データベース等を利用して、毒性学的懸念の閾値(TTC)に関する解析を実施し、TTC解析に本データベースが有用であることを示した。
- 反復投与毒性と関連する化学構造情報、生物学的情報を抽出した。
- 食品中化学物質の安全性評価に有益なツール及び情報を提供することができた。
- インシリコ手法による新たな安全性評価手法の確立に有用な知見を提供することができた。