

研究課題名 (研究項目名)	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（課題番号：1602） （3 新たなリスク評価方法等の確立 （1） <i>in silico</i> 手法を用いた評価方法の確立に関する研究）
主任研究者	研究者名：吉成浩一 所属機関：静岡県立大学

I 研究期間及び研究目的等

1 研究期間

平成28年度～平成29年度（2年間）

2 研究目的

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り、社会的関心も高い。これら化学物質の安全性評価は通常インビボ毒性試験の結果に基づき行われる。しかし、コストと時間、動物愛護の観点から安価で効率的な代替法の開発が求められている。また、評価対象物質の数は膨大であり、化学合成が困難な物質も多いことから、インシリコ手法による安全性評価が必要である。化学物質の毒性評価においては、近年adverse outcome pathway (AOP) やmode of action (MOA) などの毒性発現機序に基づいた考察が重要とされており、インビトロ・インシリコ手法の開発においてもこれらの考慮が重要である。これらの手法の開発には、多数の化学物質の高品質な毒性試験情報が必要であり食品健康影響評価書として公開されているGLP下で行われた毒性試験情報は貴重な情報源である。また近年我々は、化学物質の反復投与毒性データベースと毒性発現機序に基づくカテゴリーを搭載し、試験データのない物質をデータベース中の類似物質と共にグループ化することにより毒性エンドポイントとその強度を類推できる有害性評価支援システム統合プラットフォーム (HESS) を開発した。これらの研究背景を基に、本研究では、食品健康影響評価書のデータをHESSに組み込んでデータセットを拡充し、拡張版HESSを利用して、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作成、③非遺伝毒性発がん性等の過去の評価の検証試験、④具体的な応用事例として、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の検証等を行うことで、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。

3 研究体制（※研究項目ごと個別課題ごとに研究担当者及び所属機関名を記入すること。）

研究項目名	個別課題名	研究担当者名（所属機関名）
（1）公開毒性試験成績の	1）公開毒性試験結果の抽出	吉成浩一（静岡県立大学） 頭金正博（名古屋市立大学）

データベース化		山田隆志（国立医薬品食品衛生研究所）
	2）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	吉成浩一（静岡県立大学） 頭金正博（名古屋市立大学） 山田隆志（国立医薬品食品衛生研究所）
（2）データベースのインシリコ毒性予測・評価への応用	1）抽出毒性データを利用したデータベースの有用性の検証	吉成浩一（静岡県立大学） 頭金正博（名古屋市立大学） 山田隆志（国立医薬品食品衛生研究所）
	2）反復投与毒性のカテゴリの拡充、構造アラートの抽出	吉成浩一（静岡県立大学） 山田隆志（国立医薬品食品衛生研究所）
	3）毒性予測への応用研究	吉成浩一（静岡県立大学） 頭金正博（名古屋市立大学）
（3）毒性発現機序のインビボ・インビトロ検証試験	1）毒性発現機序に関する検証試験	吉成浩一（静岡県立大学）
	2）毒性予測に関する検証試験	吉成浩一（静岡県立大学）

4 倫理面への配慮について

本研究では、臨床研究や臨床検体の使用、患者アンケート等を計画しておらず、人権の保護、個人情報の取扱の配慮を必要とする研究内容に該当しない。

II 研究内容及び成果等

（1）研究項目名：公開毒性試験成績のデータベース化

1）個別課題名：公開毒性試験結果の抽出（研究担当者名：吉成浩一（静岡県立大学）、頭金正博（名古屋市立大学）、山田隆志（国立医薬品食品衛生研究所））

1-1）ラットを用いた反復投与毒性試験について、食品健康影響評価技術研究課題番号1302で対象とした食品健康影響評価書（農薬を中心とした220物質）を精査し、投与期間90日以上でかつ食品健康影響評価に用いられた試験結果計660試験を選択した（「参考データ」とされている試験結果は採用しなかった。）。物質名、化学構造情報（SMILES形式）、CAS番号、試験期間、投与量、試験のNOEL/LOEL情報を整理した。

1-2）器具・容器包装に関する食品健康影響評価書及び関連する文献情報（フタル酸エステル類6物質、ポリ乳酸、ポリエチレンナフタレート、再生PETの溶出物質の計9物質）から反復投与毒性試験及び発がん性試験について、動物種、系統、雌雄、投与量、全毒性所見、各所見のLOAEL/NOAELに関する情報を抽出し、全ての動物種の90日間以上の試験情報を入力した。したがって、棄却した試験は試験期間が90日未満のものだけである。これらの情報を「毒性徴候表」（Microsoft Word）に入力した。入力が完了した試験数は114試験であり、内訳としてはフタル酸ジイソデシル（DIDP）：9試験、フタル酸ジイソノニル（DINP）：13試験、フタル酸ジブチル（DBP）：8試験、フタル酸ビス（2-エチルヘキシル）

(DEHP) : 15試験、フタル酸ベンジルブチル (BBP) : 14試験、フタル酸ジ-*n*-オクチル (DNOP) : 2試験、ポリ乳酸 : 12試験、ポリエチレンナフタレート : 40試験、再生PETの溶出物質 : 1試験であった。

また、同様に生殖発生毒性試験情報（一世代試験、二世代試験、発生試験等）について、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した。抽出条件としては一世代試験、二世代試験、発生試験のすべての動物種の試験情報とした。ただし、一世代試験、二世代試験、発生試験以外の生殖発生毒性試験がTDI（耐用一日摂取量）の設定根拠となっていた場合にはその試験情報も収集した。したがって、生殖発生毒性試験情報において棄却した試験は一世代試験、二世代試験、発生試験に分類されない試験のみである。生殖発生毒性試験情報は、投与期間により観察される毒性所見が異なることから非常に複雑なことから、投与期間ごとに情報の分類を行った。具体的には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、一世代試験、二世代試験、発生試験の3つに分け、発生試験に関してはさらにA～Fの6区分に分けた。なお、A～F区分の詳細は、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～性成熟である。抽出が完了した試験数は91試験であり、内訳はDIDP：5試験、DINP：4試験、DBP：29試験、DEHP：22試験、BBP：17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試験であった。抽出した情報は試験ごとにMicrosoft Excelのワークシートに入力した。OECDのガイドラインを参考にカテゴリー化を行い、類似所見や表記ゆれを整理し全毒性所見を分類した（表1-1）。Microsoft Excelのワークシートにおいて、雌雄、親動物、児動物を区別し、投与量と毒性所見のマトリクス表を作成した。対応する投与量で毒性所見が認められた場合はマトリクス表のセルに1を入力し、認められなかった場合は空欄とした。剖検所見や病理組織所見等は記述式とした。表1-2にマトリクス表の一部を示した。さらに、フタル酸エステル類6物質（DIDP：5試験、DINP：4試験、DBP：29試験、DEHP：22試験、BBP：17試験、DNOP：2試験）についてはリレーショナルデータベースソフトであるFileMakerを用いて、生殖発生毒性試験に関するデータベースを作成した。物質ごとに一世代試験、二世代試験、発生試験に分けて各試験のワークシートと毒性試験情報源である文献をリンクさせ、統一された情報管理・検索システムを構築した（図1-1）。

表1-1. 生殖発生毒性試験に関する毒性所見項目一覧

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		
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			
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

剖検所見		
(例)精巣矮小、精巣の軟化		
病理組織所見		
(例)ライディッヒ細胞過形成		
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	

表1-2. 生殖発生毒性試験情報を入力したデータシートの例

母体																				胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔										胎仔									
----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--	----	--	--	--	--	--	--	--	--	--

2) 個別課題名：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 (吉成浩一 (静岡県立大学)、頭金正博 (名古屋市立大学)、山田隆志 (国立医薬品食品衛生研究所))

上記1) で抽出したデータのうち、投与期間が90日間以上のラットの反復投与毒性試験の結果を選択し、HESSにインポート可能なフォーマットで毒性データベースを構築した。まず、食品健康影響評価書に記載の試験結果を、1試験ごとに「毒性徴候表」に英語で整理した。続いて、「HESS反復投与毒性データ入力シート」に物質名、化学構造情報 (SMILES形式)、CAS番号、試験期間、投与量及び試験のNOEL/LOEL情報を入力した。さらに、被験物質の影響とそれが現われた投与量 (LO(A)EL)、その一つ低い投与量 (NO(A)EL) をHESS反復投与毒性データ入力シートに入力した。HESS反復投与毒性データ入力シートは約500の検査・観察項目から構成されており、該当する項目にLO(A)EL値とNO(A)EL値を入力するが、観察される頻度が少ない所見で、入力シートに該当する項目がない場合には”other findings”の項目にLO(A)EL値とNO(A)EL値を入力した。データ入力のクオリティコントロールは、データ入力者と別にデータチェックする毒性専門家が担当した。作成した「毒性徴候表」と「HESS反復投与毒性データ入力シート」に入力した毒性データはHESSへインポートした。作成したHESS反復投与毒性データ入力シートは、そのフォーマットを変換することにより、OECDが提供するQSAR Toolboxへインポートが可能となる (図1-2)。

HESSのワークフローの”Input”は、化学構造式を表示させるモジュールである。CAS番号、化合物名、SMILESの入力、または構造式の描画により、対象とする物質を表示させることができる (図1-3A)。“RDT Data”のモジュールでは、毒性データベースを選択して毒性試験結果を表示させることができる (図1-3B)。作成した毒性徴候表を表示させることも可能である。HESSには代謝マップデータベースを搭載しているが、本研究事業では代謝情報は収集しなかった。実測の代謝情報がデータベース化されていない場合には、代謝シミュレーターを用いて推定される代謝物の構造を表示させることができる (図1-3C)。HESSはカテゴリーアプローチを支援するシステムであり、対象物質の類似物質とその試験データを内蔵するデータベースから呼び出して表示させることができる (図1-3D)。この機能を利用することによって、類似する物質間での構造と毒性の傾向を解析することが可能である。評価対象物質の毒性データが限られている場合、あるいは利用できない場合には、類似物質の毒性試験データを利用したリードアクロスによる類推によって、そのデータギャップを補完することができる。

本研究事業でデータベース化した反復投与毒性試験は224物質、計674試験であった (付録)。試験期間による内訳は、13週が401試験、6か月以上1年未満が11試験、1年以上2年未満が22試験、2年が240試験であった。図1-4には13週間試験において対象臓器に変性又は壊死を示した物質のカウントを、その病理変化が現われた投与量とともに示した。肝毒性を示した物質数は51、腎は36、精巣は15、卵巣は9であり、変性・壊死が現われた投与量 (臓器LOAEL値) の分布の傾向は臓器間で類似していた。脳、脊髄又は末梢神経に変性・壊死を示した物質数は2であった。しかし、2年間の慢性試験では当該2物質を含む計10物質が神経細胞の変性・壊死を示した。データ数が限られているものの神経細胞の変性・壊死は他の臓器のそれと比べ、より長期間の曝露後に現われる場合が多い傾向にあることが示唆された。今回の食品健康影響評価書のデータセットには農薬が多く含まれてお

本研究項目では、食品健康影響評価書のデータベース化してHESSに搭載することにより、食品健康影響評価で対象となる化学物質あるいはその関連物質について、その反復投与毒性の評価をサポートする情報を迅速に提供し、共有できる基盤を構築した。

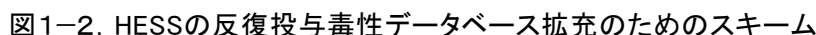


図1-2. HESSの反復投与毒性データベース拡充のためのスキーム

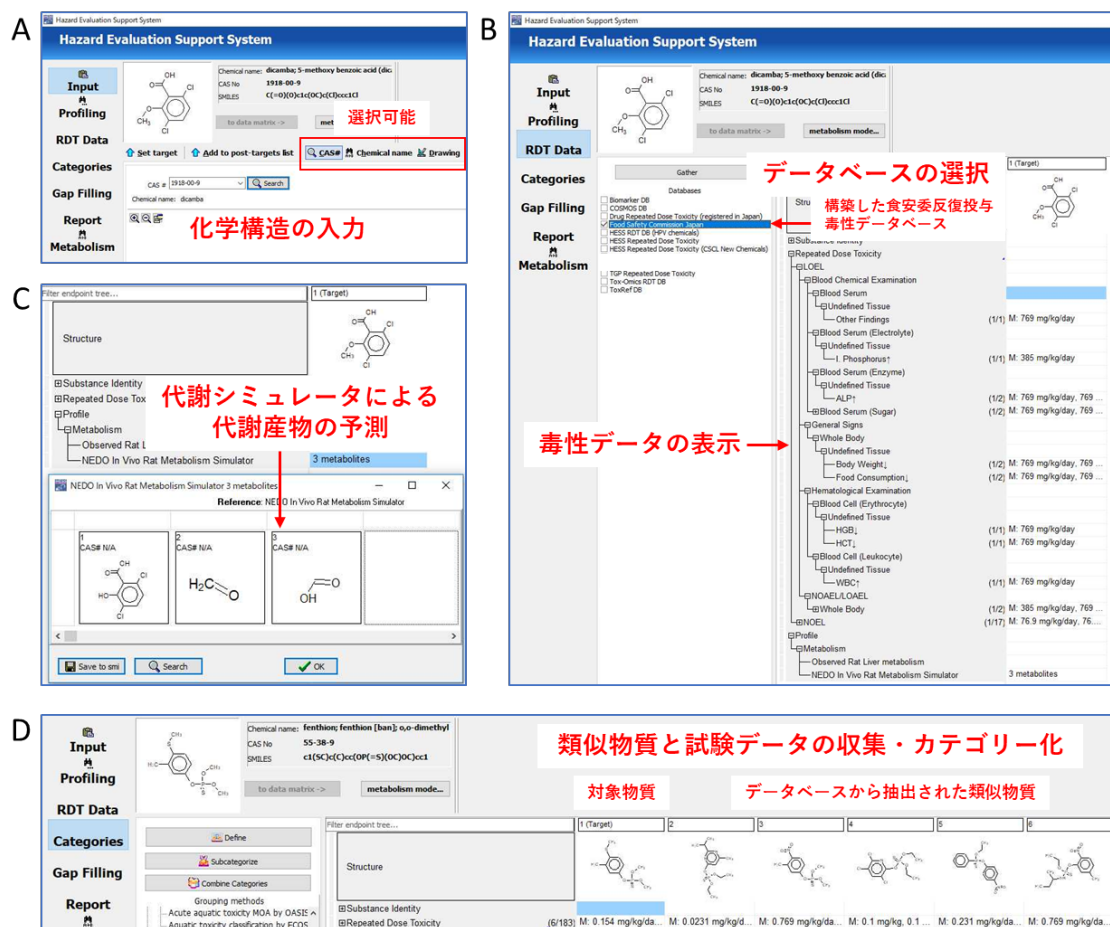


図1-3. HESSによる食品健康影響評価書化学物質の反復投与毒性データの表示と評価支援のためにユーザーに提供される関連情報

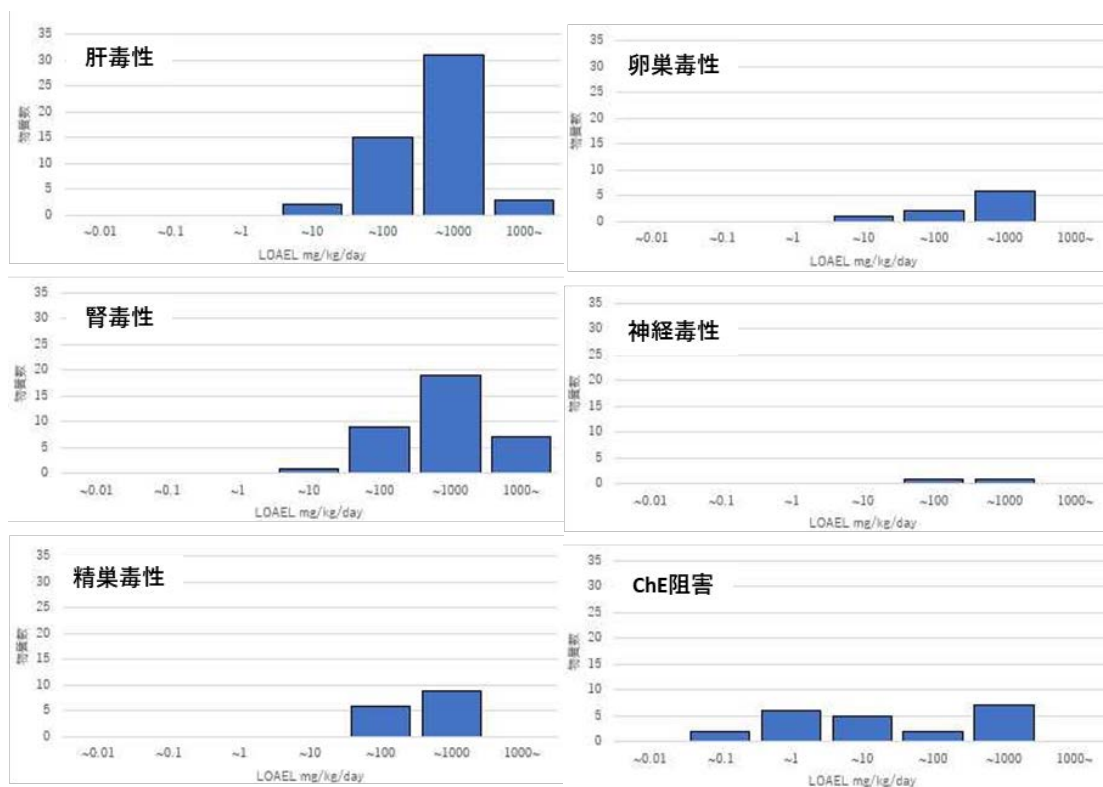
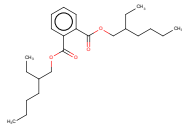
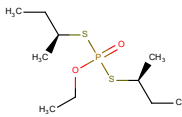
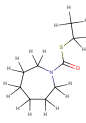
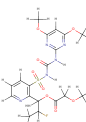
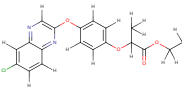
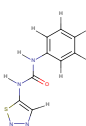
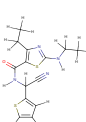
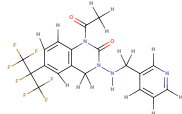
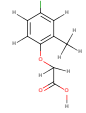
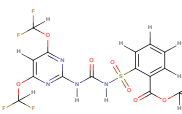
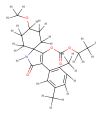
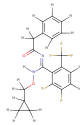
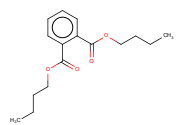
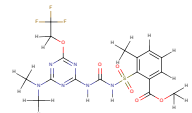
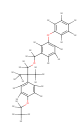


図1-4. 13週間試験において各臓器に変性・壊死を示した物質数並びにコリンエステラーゼ阻害を示した物質数とLOAEL値の分布

表1-3. 13週間試験において精巣に毒性影響を示した化合物の構造、投与量と観察された所見

Chemical Name	Structure	Rat Strain	LOAEL (mg/kg/day)	Target organ	Findings
Bis(2-ethylhexyl) phthalate(DEHP)		SD	37.6	Testis	Vacuolization degeneration, Sertoli cell
Cadusafos		SD	59.1	Testis	Degeneration, supporting cell
Molinate		Wistar	68.7	Testis	Atrophy
Flucetosulfuron		Wistar	69.4	Testis	Germ cell↓
Quizalofop-ethyl		SD	82.9	Testis	Germ cell↓; Atrophy
Thidiazuron		Wistar	102	Testis	Atrophy
Ethaboxam		SD	154	Testis	Atrophy, seminiferous; Hyperplasia, interstitial cell;
Pyrifluquinazon		Fischer	155	Testis	Atrophy, seminiferous
MCPA		Wistar	177	Testis	Atrophy
Primisulfuron-methyl		SD	500	Testis	Atrophy; Degeneration

Chemical Name	Structure	Rat Strain	LOAEL (mg/kg/day)	Target organ	Findings
Spirotetramat		Wistar	616	Testis	Degeneration, seminiferous tubule; Desquamation, epithelium, seminiferous tubule
Cyflufenamid		SD	673	Testis	Hyperplasia, interstitial cell
Dibutyl phthalate (DBP)		F344	720	Testis	Degeneration, seminiferous tubule
Triflurosulfuron-methyl		SD	965	Testis	Small; Atrophy seminiferous; Degeneration, seminiferous tubule
Etofenprox		Wistar	970	Testis	Degeneration seminiferous tubule

(2) 研究項目名：データベースのインシリコ毒性予測・評価への応用

1) 個別課題名：抽出毒性データを利用したデータベースの有用性の検証(吉成浩一(静岡県立大学)、頭金正博(名古屋市立大学)、山田隆志(国立医薬品食品衛生研究所))

1-1) 構造的に関連する化学物質の毒性試験情報を収集し、データベース化することで、カテゴリー評価への応用が期待される。そこで、上記(1)の1)でフタル酸エステル類(DIDP、DINP、DBP、DEHP、BBP、DNOP)の食品健康影響評価書(器具・容器包装)及び関連する文献情報から生殖発生毒性試験情報(一世代試験、二世代試験、発生試験等)のデータを収集、整理したデータベースを活用し、フタル酸エステル類の生殖発生毒性に関する特徴を解析した。その結果、生殖発生毒性試験において、DBP及びDEHPが最も低いNOAEL/LOAEL値を示し、どちらもラットの精巣毒性がその設定根拠となっていた(表2-1)。そこで、フタル酸エステル類6物質の雄生殖器系への影響を比較したところ、ラットの児動物において、DBPは1.5-3 mg/kg体重/日以上で精巣重量減少や前立腺重量減少などが確認され、DEHPは5 mg/kg体重/日以上で精巣重量増加が確認され、2物質とも極低用量で毒性を示した。また、6物質の中でBBPの毒性は中程度であり、DIDP、DINP、DNOPは毒性が弱いと考えられた。さらに、毒性所見ごとの影響を比較したところ、精巣重量変化と肛門生殖突起間距離(AGD)の短縮が多く、フタル酸エステル類で見られた。そこで、精巣重量変化に関する影響を6物質で比較したところ、DBP及びDEHPにおいて最も低用量で確認され、AGD短縮に関しては、DEHPにおいて最も低用量で確認された。雌生殖器系への影響については、DBPの毒性が最も強く、1.5-3 mg/kg体重/日以上でラットの児動物において腺房乳芽の形成遅延が確認され、次いでDEHPでは15 mg/kg体重/日以上で膈開口の遅延が確認された。以上の結果から、フタル酸エステル類の雌雄の生殖器系への影響は、側鎖のアルキル鎖の長さによって異なり、長鎖型(DIDP、DINP、DNOP)よりも短鎖型(DBP、DEHP、BBP)の方が低用量で毒性を示した。また、各毒性所見に注目すると、短鎖型の中でも物質ごとに毒性の強さが異なるため、その発生機序が異なる可能性が考えられた。

一方、フタル酸エステル類の反復投与毒性に関する特徴を解析したところ、臓器別では雄雌ともに肝臓が多く、肝臓の詳細では重量増加が最も多く見られた。しかし、重量増加とペルオキシソーム増殖など複数の所見が根拠となるものも見られた。試験動物別ではラットが最も多かった。化学物質別ではDEHPにおいて、非げっ歯類を用いた毒性試験におけるNOAELの値はげっ歯類を用いた値より高い用量であったが、他の物質では違いがみられなかった。ラットの肝臓への影響について反復投与毒性試験情報と生殖発生毒性試験情報を使用して6物質を比較したところ、側鎖の長さに関連した傾向は見られなかった(表2-2)。以上の結果よりフタル酸エステル類の側鎖と毒性影響の関連性において、肝臓と生殖系では異なる傾向が示唆された。

表2-1. フタル酸エステル類6物質の生殖発生毒性試験におけるNOAEL/LOAELの比較

◆生殖発生毒性試験 最低NOAEL/LOAEL						
剤	動物種	投与方法	試験期間	NOAEL (mg/kg/day)	LOAEL (mg/kg/day)	所見
BBP	ラット	強制経口	二世代	20	100	流涎、FSH濃度上昇、 体重低値、腎重量増加（親） 体重低値、T ₃ 濃度低下（児）
DBP	ラット	混餌	発生	—	1.5～3.0	精母細胞形成遅延、乳腺組織変性（児）
DEHP	ラット	強制経口	発生	3	10	AGD短縮、生殖器官重量減少（児）
DIDP	ラット	混餌	二世代	33～76	114～254	肝・腎の変化（親）
DINP	ラット	混餌	発生	30～66	307～657	体重減少（児）
DNOP	ラット	強制経口	発生	83	250	第14肋骨の増加（胎児）

表2-2. フタル酸エステル類6物質の肝毒性に関するNOAEL/LOAEL値の比較

化合物	LOAEL (mg/kg体重/日)	NOAEL (mg/kg体重/日)	対象（ラット）	試験の種類
DIDP	114	33	親	二世代
	120	60	雌	反復投与
DINP	143	114	親	二世代
	152	15	雌雄	反復投与
DBP	794	385	親	二世代
	275	133	児(雌)	発生
	688	142	雌雄	反復投与
DEHP	48	14	親	三世代
	146.6	28.9	雌雄	反復投与
BBP	200	100	親(雌)	二世代
	550	180	雄	反復投与
DNOP	1,000	設定無し	親(雌)	発生
	350.1	37	親(雄雌)	反復投与

1-2) 毒性試験成績のデータベースを構築することにより、各物質の様々な情報の比較、物質間又は評価物質と既存のHESS搭載物質間での毒性比較などが簡便に行うことができ、これらの知見は食品健康影響評価の基礎資料として有益である。研究班で構築する毒性情報データベースの活用例として、本課題では種差の検討を行った。

既に抽出、整理しているラットの2年間及び90日間反復投与毒性試験データから、総数(2年間173物質、90日間195物質)の10%以上の物質(2年間試験では18以上、90日間試験では20以上)で認められた所見を雌雄それぞれでリストアップしたところ、39所見を抽出できた。次にラット(2年間)及びイヌ(2年間)の両動物で試験が行われた物質を抽出したところ、雌雄ともに161物質が該当した。同様に、ラット(2年間)及びマウス(18か月間又は70~90週間)の両動物で試験が行われた物質を抽出したところ、雄で125物質、雌で124物質が該当した。そこで、これらに物質の毒性試験において上記39所見がいずれかの用量で認められたか否かを調査した(表2-3、2-4)。なお、4群以上の試験群(対照群及び3用量)が存在する試験の結果、また試験が複数存在する場合には最高用量で行われた試験結果を採用した。その結果、ラットとイヌの比較においては、両動物種で共通の毒性所見を示した物質は、「肝絶対重量増加」や「肝相対重量増加」、「体重増加抑制」を除き、非常に限られていた。「Hb減少」や「摂餌量減少」において両動物種で共通して認められた物質数が比較的多かったが、これらにおいても両動物で共通して所見を示した物質数の割合はほとんどが30%程度であった。ラットとマウスの比較では、両動物種で共通の毒性所見を示した物質数はラットーイヌ間の比較より若干多かった。

次に90日間試験での比較を行った(表2-5、2-6)。ラット及びイヌ並びにラット及びマウスでともに90日間試験が行われた物質はそれぞれ155物質及び118物質であり、これらを対象とした。所見は慢性毒性試験と同じ39所見を対象とした。その結果、慢性毒性試験とほぼ同様の結果が得られ、「肝絶対重量増加」や「肝相対重量増加」、「体重増加抑制」でイヌ及びマウスにおいて高いラットとの一致率が認められた。他の所見に関しては、2年間よりは一致率は概ね高かった。また、比較的多くの物質で認められた貧血関連の所見では、イヌに比べてマウスでの一致率が高かった。他方、肝細胞肥大関連所見ではイヌとマウスで大きな差は認められなかった。

上記の比較では、ラットで認められた全ての所見を対象としており、所見の毒性学的意義はそれぞれの物質で異なる。そこで最後に、ラットでNOAELの設定根拠となった所見に限定し、それらがイヌ又はマウスの試験において認められたか否かを解析した。まず、上記ラット2年間試験及び90日間試験のデータを利用して、LOAELで認められた全ての毒性所見をそれぞれの物質でリストアップした。このうち、試験総数(2年間試験:173試験/物質、90日間試験:195試験/物質)の5%以上(2年間試験では9以上、90日間試験では10以上)の物質で認められた所見を雌雄別に調べたところ、2年間試験では雄で20所見、雌で21所見、90日間試験では、雄で20所見、雌で15所見であった。これらの全所見について、対応するイヌ又はマウスの反復投与毒性試験において認められたか否か、或いは測定されていないかを調べた。表2-7に慢性毒性試験の比較結果を示した。イヌの慢性毒性(1年間)試験では、「肝相対重量増加」、「肝絶対重量増加」、「赤血球ChE活性阻害(20%以上)」、「体重増加抑制」は約半数(40-56%)の物質で雌雄共に認められた。マウスの慢性毒性(18か月間)試験では、上記4所見に加えて「小葉中心性肝細胞肥大」、「小葉びまん性肝細胞

肥大」及び「脾褐色色素沈着増加」が雌雄ともに高い一致率を示した。これら3所見のイヌにおける一致率は低く、動物種差が認められた。他方、雌雄差は存在するが、貧血関連の所見では、マウスに比べてイヌでラットとの一致率が高かった。これらの傾向は亜急性毒性試験でも同様であった（表 2-8）。90日間試験の一致率の傾向は2年間試験とほぼ同様であり、一致率はイヌ及びマウスともに2年間試験よりも全体的に高かった。個別の所見に関しても、2年間試験に比べて90日間試験のほうが、イヌとマウスのラットの一致率の差は小さくなっている所見が多かった。

ChE活性阻害に関しては、有機リン系農薬など、化学構造に由来する特徴であり、ChEの基質特性には大きな種差が存在しないことが、イヌ及びマウスでともに高い一致率が認められた理由と考えられる。肝細胞肥大は、核内受容体を介した酵素誘導が原因であると考えられていることから、ラットーイヌ間に比べて、ラットーマウス間で受容体のリガンド選択性の種差が小さいことが、肝細胞肥大の発現にイヌとマウスで差が認められた理由と推察される。他方、肝相対及び絶対重量増加では、イヌ及びマウスとの比較でそれほど大きな差は認められなかったことから、肝重量増加が必ずしも肝細胞肥大を伴うわけではないと思われる。貧血関連所見がイヌでマウスよりもラットとの一致率が高かった理由は不明である。

これらの解析結果は、多動物種での毒性試験をふまえた安全性試験の重要性を示唆するものであると考えられた。本解析は一例として示したものであり、今後、各化学物質の評価において要求される試験や化学物質の特徴に基づいた解析を行うことで、食品健康影響評価等の化学物質の安全性評価を行う上で有益な情報を提供できると考えている。現時点では、HESSのシステムの制限からラット毒性試験結果のデータベース化にとどまっている。食品健康影響評価書には多くのイヌ及びマウス毒性試験結果が記載されており、これらのデータベース化は、食品健康影響評価の実施において非常に有用な情報を提供すると思われる。

表2-3. ラット及びイス慢性毒性試験の毒性所見の比較解析

コード	代表的所見	オス						メス					
		Any	Both	ラット	%	イス	%	Any	Both	ラット	%	イス	%
1010110	肝絶対重量増加	78	23	57	40%	44	52%	64	18	47	38%	35	51%
1010120	肝相対重量増加	102	38	80	48%	60	63%	95	37	73	51%	59	63%
1010410	小葉中心性肝細胞肥大	50	9	42	21%	17	53%	48	7	39	18%	16	44%
1010440	び漫性肝細胞肥大	35	4	24	17%	15	27%	36	3	23	13%	16	19%
1011210	変異肝細胞巢(好酸性+)	21	0	21	0%	0	—	17	0	17	0%	0	—
1130110	腎絶対重量増加	27	5	25	20%	7	71%	16	1	14	7%	3	33%
1130120	腎比重量増加	44	7	42	17%	9	78%	43	5	39	13%	9	56%
1132210	腎症	30	0	30	0%	0	—	25	0	25	0%	0	—
1230120	脾臓相対重量増加	16	2	12	17%	6	33%	15	2	11	18%	6	33%
1250120	甲状腺相対重量増加	24	1	15	7%	10	10%	25	2	14	14%	13	15%
1250420	甲状腺ろ胞細胞肥大	15	1	11	9%	5	20%	15	0	12	0%	3	0%
1270120	副腎比重量増加	12	0	8	0%	4	0%	17	0	13	0%	4	0%
2010120	RBC 減少	58	9	30	30%	37	24%	61	9	37	24%	33	27%
2010250	Retic 増加	14	2	8	25%	8	25%	13	1	7	14%	7	14%
2010520	Hb 減少	68	13	43	30%	38	34%	75	11	52	21%	34	32%
2010620	Ht 減少	62	8	39	21%	31	26%	71	9	52	17%	28	32%
2010820	MCHC 減少	23	2	12	17%	13	15%	23	1	16	6%	8	13%
2010920	MCH 低下	31	1	23	4%	9	11%	32	1	24	4%	9	11%
2011020	MCV 低下	33	2	26	8%	9	22%	35	1	28	4%	8	13%
2011210	WBC 増加	7	0	3	0%	4	0%	9	1	6	17%	4	25%
2011910	血小板増加	35	3	15	20%	23	13%	41	2	19	11%	24	8%
2020110	血中総タンパク増加	23	1	22	5%	2	50%	25	0	24	0%	1	0%
2020120	血中総タンパク減少	31	1	11	9%	21	5%	24	0	7	0%	17	0%
2020210	アルブミン増加	14	0	14	0%	0	—	11	0	8	0%	3	0%
2020220	アルブミン減少	39	2	6	33%	35	6%	31	1	5	20%	27	4%
2020410	グロブリン増加	15	2	11	18%	6	33%	23	1	17	6%	7	14%
2020420	グロブリン減少	12	0	9	0%	3	0%	7	0	6	0%	1	0%
2020510	AST 増加	17	3	8	38%	12	25%	13	0	4	0%	9	0%
2020610	ALT 増加	30	5	11	45%	24	21%	26	2	6	33%	22	9%
2021010	ALP 増加	77	5	15	33%	67	7%	71	6	15	40%	62	10%
2021210	GGT 増加	35	8	30	27%	13	62%	27	5	21	24%	11	45%
2021410	BUN増加	24	1	22	5%	3	33%	25	0	22	0%	3	0%
2021620	血中グルコース減少	9	1	8	13%	2	50%	12	1	9	11%	4	25%
2021710	総コレステロール増加	44	6	29	21%	21	29%	55	6	47	13%	14	43%
2021820	中性脂肪減少	16	0	14	0%	2	0%	12	0	12	0%	0	—
2022010	Ca 増加	10	0	8	0%	2	0%	13	0	12	0%	1	0%
3010120	体重増加抑制	133	44	120	37%	57	77%	140	51	133	38%	58	88%
3021020	摂餌量減少	80	20	68	29%	32	63%	90	18	72	25%	36	50%
3021040	食餌効率低下	34	2	33	6%	3	67%	35	2	34	6%	3	67%

Any：ラット又はイスのいずれかの動物種で該当する所見が認められた物質数

Both：ラット及びイスの両動物種で共通して認められた物質数

ラット、イス列：ラット又はイスのそれぞれの動物種で認められた物質数とBothに対する比率（％）

表2-4. ラット及びマウス慢性毒性試験の毒性所見の比較解析

コード	代表的所見	オス						メス					
		Any	Both	ラット	%	マウス	%	Any	Both	ラット	%	マウス	%
1010110	肝絶対重量増加	66	29	44	66%	51	57%	65	25	34	74%	56	45%
1010120	肝相対重量増加	84	43	65	66%	62	69%	83	47	58	81%	72	65%
1010410	小葉中心性肝細胞肥大	52	15	37	41%	30	50%	46	11	34	32%	23	48%
1010440	び慢性肝細胞肥大	31	8	17	47%	22	36%	29	7	15	47%	21	33%
1011210	変異肝細胞巢(好酸性+)	18	5	15	33%	8	63%	15	3	13	23%	5	60%
1130110	腎絶対重量増加	22	2	18	11%	6	33%	18	1	8	13%	11	9%
1130120	腎比重量増加	35	6	31	19%	10	60%	36	8	27	30%	17	47%
1132210	腎症	25	2	22	9%	5	40%	20	0	18	0%	2	0%
1230120	脾臓相対重量増加	11	1	8	13%	4	25%	13	2	10	20%	5	40%
1250120	甲状腺相対重量増加	12	0	12	0%	0	－	12	1	12	8%	1	100%
1250420	甲状腺ろ胞細胞肥大	11	0	11	0%	0	－	12	0	12	0%	0	－
1270120	副腎比重量増加	11	0	3	0%	8	0%	13	0	6	0%	7	0%
2010120	RBC 減少	34	2	27	7%	9	22%	39	4	32	13%	11	36%
2010250	Retic 増加	9	2	7	29%	4	50%	7	1	5	20%	3	33%
2010520	Hb 減少	41	4	36	11%	9	44%	48	5	40	13%	13	38%
2010620	Ht 減少	39	3	33	9%	9	33%	48	5	42	12%	11	45%
2010820	MCHC 減少	11	0	11	0%	0	－	15	0	13	0%	2	0%
2010920	MCH 低下	17	0	15	0%	2	0%	21	1	18	6%	4	25%
2011020	MCV 低下	20	0	17	0%	3	0%	24	0	20	0%	4	0%
2011210	WBC 増加	3	0	2	0%	1	0%	7	1	5	20%	3	33%
2011910	血小板増加	11	1	11	9%	1	100%	18	1	16	6%	3	33%
2020110	血中総タンパク増加	18	0	17	0%	1	0%	18	0	17	0%	1	0%
2020120	血中総タンパク減少	12	0	10	0%	2	0%	7	0	7	0%	0	－
2020210	アルブミン増加	13	1	13	8%	1	100%	6	0	6	0%	0	－
2020220	アルブミン減少	6	0	4	0%	2	0%	7	0	4	0%	3	0%
2020410	グロブリン増加	9	0	9	0%	0	－	14	0	14	0%	0	－
2020420	グロブリン減少	10	0	9	0%	1	0%	5	0	5	0%	0	－
2020510	AST 増加	9	3	6	50%	6	50%	4	0	2	0%	2	0%
2020610	ALT 増加	12	3	7	43%	8	38%	9	1	4	25%	6	17%
2021010	ALP 増加	15	2	12	17%	5	40%	12	2	11	18%	3	67%
2021210	GGT 増加	24	0	24	0%	0	－	17	0	17	0%	0	－
2021410	BUN増加	13	0	13	0%	0	－	16	1	16	6%	1	100%
2021620	血中グルコース減少	7	0	7	0%	0	－	6	0	6	0%	0	－
2021710	総コレステロール増加	24	1	24	4%	1	100%	37	1	37	3%	1	100%
2021820	中性脂肪減少	14	0	13	0%	1	0%	13	0	12	0%	1	0%
2022010	Ca 増加	6	0	6	0%	0	－	8	0	8	0%	0	－
3010120	体重増加抑制	103	57	93	61%	67	85%	109	54	101	53%	62	87%
3021020	摂餌量減少	58	13	51	25%	20	65%	66	15	56	27%	25	60%
3021040	食餌効率低下	26	13	20	65%	19	68%	30	8	24	33%	14	57%

Any：ラット又はマウスのいずれかの動物種で該当する所見が認められた物質数

Both：ラット及びマウスの両動物種で共通して認められた物質数

ラット、マウス列：ラット又はマウスのそれぞれの動物種で認められた物質数とBothに対する比率(%)

表2-5. ラット及びイヌ亜急性毒性試験の毒性所見の比較解析

コード	代表的所見	オス						メス					
		Any	Both	ラット	%	イヌ	%	Any	Both	ラット	%	イヌ	%
1010110	肝絶対重量増加	82	34	51	67%	65	52%	82	33	65	51%	50	66%
1010120	肝相対重量増加	111	55	91	60%	75	73%	106	51	94	54%	63	81%
1010410	小葉中心性肝細胞肥大	52	8	43	19%	17	47%	48	9	39	23%	18	50%
1010440	び慢性肝細胞肥大	46	11	32	34%	25	44%	44	12	31	39%	25	48%
1011210	変異肝細胞巢(好酸性+)	1	0	0	-	1	0%	1	0	0	-	1	0%
1130110	腎絶対重量増加	17	0	15	0%	2	0%	18	0	15	0%	3	0%
1130120	腎相対重量増加	49	3	46	7%	6	50%	45	3	39	8%	9	33%
1132210	腎症	4	0	4	0%	0	-	1	0	1	0%	0	-
1230120	脾臓相対重量増加	26	5	25	20%	6	83%	27	5	24	21%	8	63%
1250120	甲状腺相対重量増加	22	2	17	12%	7	29%	18	3	13	23%	8	38%
1250420	甲状腺ろ胞細胞肥大	21	1	20	5%	2	50%	20	1	17	6%	4	25%
1270120	副腎相対重量増加	26	2	18	11%	10	20%	17	1	14	7%	4	25%
2010120	RBC 減少	63	14	42	33%	35	40%	56	15	36	42%	35	43%
2010250	Retic 増加	28	7	19	37%	16	44%	27	7	21	33%	13	54%
2010520	Hb 減少	75	12	54	22%	33	36%	74	17	58	29%	33	52%
2010620	Ht 減少	69	11	47	23%	33	33%	69	15	54	28%	30	50%
2010820	MCHC 減少	29	4	17	24%	16	25%	27	4	19	21%	12	33%
2010920	MCH 低下	27	1	21	5%	7	14%	31	3	26	12%	8	38%
2011020	MCV 低下	32	3	27	11%	8	38%	34	3	29	10%	8	38%
2011210	WBC 増加	14	0	10	0%	4	0%	22	1	18	6%	5	20%
2011910	血小板増加	43	5	25	20%	23	22%	38	6	20	30%	24	25%
2020110	血中総タンパク増加	34	1	33	3%	2	50%	28	0	27	0%	1	0%
2020120	血中総タンパク減少	36	2	20	10%	18	11%	36	2	18	11%	20	10%
2020210	アルブミン増加	27	0	25	0%	2	0%	12	0	12	0%	0	-
2020220	アルブミン減少	40	2	8	25%	34	6%	49	4	20	20%	33	12%
2020410	グロブリン増加	23	1	18	6%	6	17%	27	0	23	0%	4	0%
2020420	グロブリン減少	16	2	14	14%	4	50%	14	2	10	20%	6	33%
2020510	AST 増加	24	5	17	29%	12	42%	21	4	14	29%	11	36%
2020610	ALT 増加	34	4	20	20%	18	22%	28	1	13	8%	16	6%
2021010	ALP 増加	67	10	23	43%	54	19%	75	8	24	33%	59	14%
2021210	GGT 増加	43	7	38	18%	12	58%	50	8	48	17%	10	80%
2021410	BUN増加	30	1	27	4%	4	25%	28	1	25	4%	4	25%
2021620	血中グルコース減少	27	0	22	0%	5	0%	25	1	22	5%	4	25%
2021710	総コレステロール増加	54	6	45	13%	15	40%	62	13	56	23%	19	68%
2021820	中性脂肪減少	33	1	31	3%	3	33%	23	1	21	5%	3	33%
2022010	Ca 増加	18	1	18	6%	1	100%	11	0	10	0%	1	0%
3010120	体重増加抑制	129	59	113	52%	75	79%	122	64	106	60%	80	80%
3021020	摂餌量減少	92	29	77	38%	44	66%	96	38	81	47%	53	72%
3021040	食餌効率低下	30	2	26	8%	6	33%	29	3	26	12%	6	50%

Any：ラット又はイヌのいずれかの動物種で該当する所見が認められた物質数

Both：ラット及びイヌの両動物種で共通して認められた物質数

ラット、イヌ列：ラット又はイヌのそれぞれの動物種で認められた物質数とBothに対する比率（%）

表2-6. ラット及びマウス亜急性毒性試験の毒性所見の比較解析

コード	代表的所見	オス						メス					
		Any	Both	ラット	%	マウス	%	Any	Both	ラット	%	マウス	%
1010110	肝絶対重量増加	65	31	43	72%	53	58%	69	39	51	76%	57	68%
1010120	肝相対重量増加	86	60	67	90%	79	76%	86	57	71	80%	72	79%
1010410	小葉中心性肝細胞肥大	54	19	34	56%	39	49%	46	18	30	60%	34	53%
1010440	び漫性肝細胞肥大	32	9	22	41%	19	47%	32	9	21	43%	20	45%
1011210	変異肝細胞巢(好酸性+)	0	0	0	—	0	—	0	0	0	—	0	—
1130110	腎絶対重量増加	17	0	13	0%	4	0%	19	2	12	17%	9	22%
1130120	腎相対重量増加	40	2	35	6%	7	29%	36	2	28	7%	10	20%
1132210	腎症	3	0	3	0%	0	—	1	0	1	0%	0	—
1230120	脾臓相対重量増加	30	13	22	59%	21	62%	28	12	22	55%	18	67%
1250120	甲状腺相対重量増加	14	1	12	8%	3	33%	11	1	9	11%	3	33%
1250420	甲状腺ろ胞細胞肥大	12	1	11	9%	2	50%	13	1	11	9%	3	33%
1270120	副腎相対重量増加	18	2	11	18%	9	22%	12	0	10	0%	2	0%
2010120	RBC 減少	43	11	37	30%	17	65%	44	13	36	36%	21	62%
2010250	Retic 増加	18	5	14	36%	9	56%	19	5	16	31%	8	63%
2010520	Hb 減少	55	11	48	23%	18	61%	56	20	51	39%	25	80%
2010620	Ht 減少	49	10	39	26%	20	50%	51	19	46	41%	24	79%
2010820	MCHC 減少	14	1	13	8%	2	50%	19	3	17	18%	5	60%
2010920	MCH 低下	21	4	17	24%	8	50%	21	5	17	29%	9	56%
2011020	MCV 低下	27	4	22	18%	9	44%	24	5	19	26%	10	50%
2011210	WBC 増加	12	2	10	20%	4	50%	18	2	13	15%	7	29%
2011910	血小板増加	26	2	20	10%	8	25%	19	3	12	25%	10	30%
2020110	血中総タンパク増加	27	0	25	0%	2	0%	20	4	17	24%	7	57%
2020120	血中総タンパク減少	24	1	17	6%	8	13%	20	0	13	0%	7	0%
2020210	アルブミン増加	21	1	20	5%	2	50%	8	0	6	0%	2	0%
2020220	アルブミン減少	21	2	9	22%	14	14%	21	1	16	6%	6	17%
2020410	グロブリン増加	12	0	11	0%	1	0%	12	2	11	18%	3	67%
2020420	グロブリン減少	17	1	15	7%	3	33%	11	1	9	11%	3	33%
2020510	AST 増加	33	4	12	33%	25	16%	23	4	11	36%	16	25%
2020610	ALT 増加	41	5	16	31%	30	17%	30	2	8	25%	24	8%
2021010	ALP 増加	38	12	23	52%	27	44%	26	5	17	29%	14	36%
2021210	GGT 増加	26	2	25	8%	3	67%	34	2	33	6%	3	67%
2021410	BUN増加	36	6	28	21%	14	43%	32	3	23	13%	12	25%
2021620	血中グルコース減少	28	0	17	0%	11	0%	26	1	18	6%	9	11%
2021710	総コレステロール増加	36	4	34	12%	6	67%	50	7	41	17%	16	44%
2021820	中性脂肪減少	24	4	22	18%	6	67%	19	1	15	7%	5	20%
2022010	Ca 増加	16	0	13	0%	3	0%	7	0	5	0%	2	0%
3010120	体重増加抑制	93	50	84	60%	59	85%	87	31	80	39%	38	82%
3021020	摂餌量減少	63	11	58	19%	16	69%	63	15	60	25%	18	83%
3021040	食餌効率低下	23	8	17	47%	14	57%	24	7	18	39%	13	54%

Any：ラット又はマウスのいずれかの動物種で該当する所見が認められた物質数

Both：ラット及びマウスの両動物種で共通して認められた物質数

ラット、マウス列：ラット又はマウスのそれぞれの動物種で認められた物質数とBothに対する比率(%)

表2-7. 慢性毒性試験におけるNOAEL設定根拠となった毒性所見のラット-イヌ間及びラット-マウス間の比較解析

オス				ラット-イヌ				ラット-マウス				
カテゴリー	代表的所見	ラット所見数	イヌ所見あり	イヌ所見なし	試験なし	マウス所見あり	マウス所見なし	試験なし				
1010110	肝絶対重量増加	29	11	42%	15	58%	3	9	50%	9	50%	11
1010120	肝相対重量増加	48	23	51%	22	49%	3	24	69%	11	31%	13
1010410	小葉中心性肝細胞肥大	26	6	24%	19	76%	1	11	50%	11	50%	4
1010440	小葉び慢性肝細胞肥大	17	3	18%	14	82%	0	6	55%	5	45%	6
1011210	変異肝細胞集(好酸性細胞)	13	0	0%	13	100%	0	3	30%	7	70%	3
1130110	腎絶対重量増加	15	4	29%	10	71%	1	2	25%	6	75%	7
1130120	腎相対重量増加	22	4	18%	18	82%	0	4	31%	9	69%	9
1132210	腎症	17	0	0%	17	100%	0	1	10%	9	90%	7
1230610	脾褐色色素沈着 増加	9	2	25%	6	75%	1	5	71%	2	29%	2
2010120	RBC 減少	15	5	36%	9	64%	1	1	8%	11	92%	3
2010520	Hb 減少	20	5	28%	13	72%	2	1	7%	14	93%	5
2010620	Ht 減少	21	4	21%	15	79%	2	2	13%	14	88%	5
2011020	MCV 減少	10	0	0%	10	100%	0	0	0%	5	100%	5
2011110	赤血球ChE活性阻害(20%以上)	14	7	54%	6	46%	1	6	75%	2	25%	6
2021210	γ-GTP 増加	19	2	11%	16	89%	1	0	0%	14	100%	5
2021410	尿素窒素増加	11	1	10%	9	90%	1	0	0%	5	100%	6
2021710	血中総コレステロール増加	18	4	24%	13	76%	1	0	0%	14	100%	4
3010120	体重増加抑制	72	27	40%	40	60%	5	33	59%	23	41%	16
3021020	摂餌量減少	31	7	24%	22	76%	2	6	25%	18	75%	7
3021040	食餌効率減少	10	1	10%	9	90%	0	4	57%	3	43%	3

メス				ラット-イヌ				ラット-マウス				
カテゴリー	代表的所見	ラット所見数	イヌ所見あり	イヌ所見なし	試験なし	マウス所見あり	マウス所見なし	試験なし				
1010110	肝絶対重量増加	21	10	56%	8	44%	3	5	45%	6	55%	10
1010120	肝相対重量増加	38	19	56%	15	44%	4	19	79%	5	21%	14
1010410	小葉中心性肝細胞肥大	25	4	17%	20	83%	1	9	45%	11	55%	5
1010440	小葉び慢性肝細胞肥大	15	3	20%	12	80%	0	4	44%	5	56%	6
1130120	腎相対重量増加	18	1	6%	17	94%	0	4	36%	7	64%	7
1130910	腎近位直尿細管上皮の褐色色素(リボフスチン)沈着	9	1	11%	8	89%	0	0	0%	8	100%	1
1132210	腎症	12	0	0%	12	100%	0	0	0%	7	100%	5
1230610	脾褐色色素沈着 増加	11	2	20%	8	80%	1	4	67%	2	33%	5
1250120	甲状腺相対重量増加	9	1	13%	7	88%	1	1	14%	6	86%	2
2010120	RBC 減少	22	6	29%	15	71%	1	3	17%	15	83%	4
2010520	Hb 減少	32	7	24%	22	76%	3	5	23%	17	77%	10
2010620	Ht 減少	32	4	13%	26	87%	2	4	17%	20	83%	8
2010920	MCH 減少	10	0	0%	9	100%	1	1	17%	5	83%	4
2011020	MCV 減少	12	0	0%	12	100%	0	0	0%	5	100%	7
2011110	赤血球ChE 活性阻害(20%以上)	14	7	54%	6	46%	1	6	75%	2	25%	6
2020110	血中総タンパク質増加	11	0	0%	11	100%	0	0	0%	5	100%	6
2021210	γ-GTP 増加	9	0	0%	8	100%	1	0	0%	6	100%	3
2021710	血中総コレステロール増加	24	3	13%	20	87%	1	0	0%	18	100%	6
3010120	体重増加抑制	85	33	42%	46	58%	6	35	58%	25	42%	25
3021020	摂餌量減少	38	9	26%	26	74%	3	8	29%	20	71%	10
3021040	食餌効率減少	16	0	0%	15	100%	1	4	33%	8	67%	4

40%以上の一致率を赤で示した。

表2-8. 亜急性毒性試験におけるNOAEL設定根拠となった毒性所見のラット-イヌ間及びラット-マウス間の比較解析

オス			ラット-イヌ						ラット-マウス			
カテゴリー	代表的所見	ラット所見数	イヌ所見あり		イヌ所見なし		試験なし	マウス所見あり		マウス所見なし		試験なし
1010110	肝絶対重量増加	37	18	67%	9	33%	10	16	76%	5	24%	16
1010120	肝比重量増加	67	33	63%	19	37%	15	34	89%	4	11%	29
1010410	小葉中心性肝細胞肥大	29	6	25%	18	75%	6	8	47%	9	53%	13
1010440	小葉び湿性肝細胞肥大	16	5	38%	8	62%	3	7	58%	5	42%	4
1130120	腎絶対重量増加	24	3	17%	15	83%	7	1	7%	14	93%	10
1250420	甲状腺ろ府細胞肥大	15	0	0%	13	100%	2	0	0%	6	100%	9
2010120	RBC 減少	23	7	41%	10	59%	6	6	38%	10	63%	7
2010520	Hb 減少	32	8	30%	19	70%	5	7	32%	15	68%	10
2010620	Ht 減少	30	8	35%	15	65%	7	6	32%	13	68%	11
2010920	MCH 減少	13	1	10%	9	90%	3	2	29%	5	71%	6
2011020	MCV 減少	16	2	14%	12	86%	2	2	17%	10	83%	4
2011110	赤血球ChE活性阻害(20%以上)	10	5	63%	3	38%	3	3	60%	2	40%	6
2020110	血中総タンパク質増加	15	0	0%	13	100%	2	0	0%	6	100%	9
2020610	ALT 増加	11	1	11%	8	89%	2	1	20%	4	80%	6
2021210	γ-GTP 増加	10	2	25%	6	75%	2	0	0%	6	100%	4
2021710	血中総コレステロール増加	24	2	10%	19	90%	3	0	0%	12	100%	12
2021820	中性脂肪減少	14	1	7%	13	93%	0	3	33%	6	67%	5
3010120	体重増加抑制	63	30	55%	25	45%	8	24	73%	9	27%	30
3021020	摂餌量減少(低下)	37	11	35%	20	65%	6	2	11%	17	89%	18
3021040	食餌効率減少(低下)	12	1	9%	10	91%	1	3	60%	2	40%	7
メス			ラット-イヌ						ラット-マウス			
カテゴリー	代表的所見	ラット所見数	イヌ所見あり		イヌ所見なし		試験なし	マウス所見あり		マウス所見なし		試験なし
1010110	肝絶対重量増加	46	20	56%	16	44%	10	23	79%	6	21%	17
1010120	肝相対重量増加	75	37	58%	27	42%	11	40	83%	8	17%	27
1010410	小葉中心性肝細胞肥大	26	5	24%	16	76%	5	9	53%	8	47%	9
1010440	小葉び湿性肝細胞肥大	12	7	64%	4	36%	1	6	67%	3	33%	3
1130110	腎絶対重量増加	12	0	0%	7	100%	5	2	40%	3	60%	7
1130120	腎相対重量増加	22	2	12%	15	88%	5	1	7%	14	93%	7
1230610	脾褐色色素沈着増加	10	1	13%	7	88%	2	3	43%	4	57%	3
2010120	RBC 減少	19	10	71%	4	29%	5	6	38%	10	63%	3
2010520	Hb 減少	29	9	39%	14	61%	6	9	38%	15	63%	5
2010620	Ht 減少	24	6	35%	11	65%	7	9	56%	7	44%	8
2011110	赤血球ChE活性阻害(20%以上)	11	5	63%	3	38%	3	3	60%	2	40%	6
2021710	血中総コレステロール増加	32	8	30%	19	70%	5	4	20%	16	80%	12
2021820	中性脂肪減少	11	0	0%	11	100%	0	1	14%	6	86%	4
3010120	体重増加抑制	68	35	65%	19	35%	14	14	42%	19	58%	35
3021020	摂餌量減少	40	19	58%	14	42%	7	5	23%	17	77%	18

40%以上の一致率を赤で示した。

1-3) 毒性学的懸念の閾値 (Threshold of Toxicological Concern; TTC) とは、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のような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、有用であると考えられている。

TTCは米国FDAにおいて器具・容器包装材料の申請時の省力化を図るため、溶出量が少ない物質は毒性評価が免除できるのではとの考えに基づき検討が始まった。発がん性が最も感受性の高い毒性エンドポイントであるという仮定に基づいて、発がん性データベースから得られるTD₅₀ (50%発がん用量) データの分布解析などから、1.5 µg/人/日を閾値とした場合、評価化学物質の1/10が発がん性物質であると仮定すれば96%の化学物質が10⁻⁶リスクを超えないことが示された¹⁾。以上から、1.5 µg/人/日が高度に健康を保護する閾値であるとされている。

また、非発がんエンドポイントにおける構造に基づく階層的TTCが提唱されている。Munroら (1996) は、非発がん性毒性データのある613物質 (食品添加物、医薬品、工業化学品、農薬) からなる基準物質データベースについて、Cramerらが作成した33の質問に対するディシジョンツリー²⁾を用いてクラスⅠ、Ⅱ、Ⅲに分類した。クラスⅠは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はクラス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 (中間物質)、クラスⅢは初期評価で安全であるという強い根拠は全くないか、或いは顕著な毒性を示唆する化学構造を有する物質、又は反応性の高い官能基を有する物質と定義されている。上記に従って分類された各物質について最も保守的なNOEL値を選定し、クラスごとのNOELの対数累積分布図から5パーセンタイルNOEL値を算出し、さらに体重60 kg、不確実係数 (UF) 100を用いて、各分類に対するヒト曝露閾値を導出した。クラスⅠに対しては1,800 µg/人/日、クラスⅡに対しては540 µg/人/日、クラスⅢに対しては90 µg/人/日の閾値が得られ、追加の研究によりその妥当性が示されている。一方で、近年の毒性データベースの充実に伴い、それらデータセットを統合し、ケミカルスペースを拡大させ、TTC値を再検証することが課題と認識されている³⁾。

そこで非発がんエンドポイントの閾値 (Non-Cancer TTC) を検討するために、最新版のHESSに登録されているGLPに準拠した化学物質の反復投与毒性試験計732試験を対象に、NO(A)EL値から算出される有害性評価値の分布を調査した。HESSの反復投与毒性試験データベースは、主に日本の化学物質審査規制法の下で実施された既存化学物質の反復投与毒性試験並びに米国NTPで実施された化学物質、生物毒等の反復投与毒性試験・がん原性試験の予備試験の結果を収載している。投与ルートは経口、投与期間は28-90日間のGLPに準拠した試験に限定されている。

本解析は以下の手順で行った。まず、732物質の構造式情報 (SMILES形式) をEUのJoint Research Centerが開発した毒性推定ソフトウェアToxTree(ver. 2.6.13)に入力し、Cramer分類を行った。その結果、クラスⅠは190物質 (26%)、クラスⅡは22物質 (3%)、クラスⅢは520物質 (71%) であった。次いで、NOEL値から算出されるTDI値の分布を調査した。NOEL値の単位はmg/kg体重/日とし、HESSの毒性データベースで投与量がppmで表されている試験の場合には、元の報告書を参照して投与量をmg/kg体重/日に変換して単位を統一

した。最低用量において被験物質による影響が観察され、NOEL値が利用できない場合には、LOEL値を3で除した。28日間以上90日間未満の試験から得られたNOEL値は6で、90日間試験で得られたNOEL値は2で除して、試験期間の補正を行い、さらに種差・個体差のUF100で除してTDI値の分布を得た。NOEL値の根拠となった所見がヒトへの外挿性がないと考えられた場合（雄ラット特異的な腎の硝子滴沈着が認められた場合）を除いた5パーセンタイルのTDI値は、CramerクラスⅠでは508 µg/人/日、クラスⅡでは32 µg/人/日、クラスⅢでは109 µg/人/日であった。

HESSの毒性試験データは主に化審法で評価されたNOELベースの結果を収載している。一方、MunroやCOSMOSのTTCデータベースはNOAELベースで整理されている。臓器重量、血液化学、血液学的影響は、等しい又はより高い用量でそれらに関連する病理学的又は有害な影響がある場合にのみ採用している。また、摂餌量/摂水量の変化は体重の変化及び関連する影響結果がある場合にのみ重要となる。さらに、全身影響のみが考慮され、投与部位の炎症など局所的な影響は考慮されていない。そこで、このルールに従ってHESSの毒性データ（732試験）をNOAELベースで整理し、対数累積分布図を作成して5パーセンタイルのTDI値を再計算した。その結果、CramerクラスⅠでは800 µg/人/日、クラスⅡでは348 µg/人/日、クラスⅢでは166 µg/人/日であった（図2-1、表2-9）。

HESSデータベースのTTC値を1996年のMunroデータベースと化粧品原材料物質を中心とするCOSMOSデータベースのTTC値と比較した^{4,5)}。HESSのTTC値は、クラスⅢではMunroのそれと同程度であったが、クラスⅠでは既報の二つのTTCデータベースから提唱されているTTC値より低かった。これは、HESSには化審法既存化学物質点検事業の試験データが多く含まれているが、同事業は毒性が懸念される物質を選択して試験を実施してきたため、毒性が比較的強い物質が多く含まれていることが一因として考えられる。

HESS毒性データベースの化学物質には、化学反応性が高いとされる遺伝毒性陽性物質がMunroやCOSMOSのTTCデータベースの化学物質と比較して多く含まれていることが示唆されたことから、遺伝毒性陽性物質がTTC値に影響を及ぼしているかどうかを解析した。遺伝毒性の実試験結果は、OECD QSAR Toolbox、国立医薬品食品衛生研究所既存化学物質毒性データベース（JECDB）及び厚生労働省職場のあんぜんサイトのウェブページより取得した。その結果、CramerクラスⅢでは520物質中、エームス試験陽性が131物質、エームス試験陰性が266物質、エームス試験データなしが123物質であった。クラスⅢエームス試験陽性物質の5パーセンタイル値は182 µg/人/日、エームス試験陰性物質の5パーセンタイル値は100 µg/人/日であり、エームス試験陽性物質の方が閾値が高いという結果が得られた。クラスⅢエームス試験陽性物質のうち、発がん性陽性物質は53物質（5パーセンタイル値は139 µg/人/日）、陰性物質は11物質（サイズが小さく5パーセンタイル値は算出できず）であった。一方、クラスⅢエームス試験陰性物質のうち、発がん性陽性物質は40物質（5パーセンタイル値は7.2 µg/人/日）、陰性物質は23物質（5パーセンタイル値は101 µg/人/日）であった（表2-10）。非遺伝毒性発がん物質には、後述のように直接作用によるthyroid peroxidase阻害や核内受容体に作用する物質が含まれていた。以上の解析結果から、クラスⅢの遺伝毒性物質のTTC値は、クラスⅢの非遺伝毒性物質のTTC値と比べて高いことが示唆された。一方、クラスⅢ非遺伝毒性発がん物質は、クラスⅢ遺伝毒性発がん物質と比べて明らかにTTC値が低いことが判明した。

ケミカルスペースを比較したところ、HESSデータセットは、アルキル基が置換したフェノール環やC=S結合を持った化合物が多い、MunroやCOSMOSよりヘテロサイクリックやケトンを持った物質が少ない、Munroよりハロゲン化合物が少ない、などの特徴があり、MunroやCOSMOSとは異なるケミカルスペースを持つことが判明した（図2-2）。このことは、HESS TTCデータベースは既報のTTCデータベースと統合することによりケミカルスペースを拡大でき、TTCアプローチを器具・容器包装等の工業用に利用される化学物質に適用する上で有用であると考えられた。

TTCアプローチの適用除外範囲を検討することは重要である。5パーセンタイルの物質のうち、構造類似性が認められたグループとしてアニリン類とチオウレア類が認められた。アニリン類は代謝活性化を介して血液毒性（溶血）と肝毒性（肝細胞変性・壊死）を示すこと、チオウレア類は甲状腺ホルモンの合成に関わるthyroid peroxidaseを直接的に阻害することで甲状腺毒性（甲状腺濾胞上皮肥大）を示すことが知られている。これら毒性メカニズムが明らかな両カテゴリーはNon-Cancer TTCの適用除外の候補として考えられた。その他、5パーセンタイルの物質には、構造類似性は認められないものの、肝の核内受容体を活性化して肝肥大を誘導すると考えられる物質が認められた（WY-14,643、phenobarbital、perfluoroundecanoic acid、2-(2'-hydroxy-3',5'-di-*tert*-butylphenyl)benzotriazole）。

さらに、上記とは別に本研究事業でデータベース化した食品健康影響評価書の反復投与毒性試験の結果を用いて、一般毒性の閾値を検討したところ、混合物を除く219物質のうち、CramerクラスⅠは7物質、クラスⅡは2物質、クラスⅢは194物質、有機リンクラスは16物質であった。クラスⅢが88.6%を占め、クラス分類に偏りが認められた。クラスⅢの5パーセンタイルのTDI値は199 µg/人/日と算出され、MunroやHESSデータセットのクラスⅢのTTC値とほぼ同等であった。この結果は、Munroらによって提唱されたTTC値の妥当性を示唆するものと考えられる。

参考文献

- 1) Munro IC: Safety assessment procedures for indirect food additives: an overview. Report of a workshop. *Regul Toxicol Pharmacol.* **12**, 2-12, 1990.
- 2) Cramer GM, Ford RA, Hall RL: Estimation of toxic hazard - A decision tree approach. *Food Cosmet Toxicol.* **16**, 255-276, 1978.
- 3) EFSA, (2016) Review of the Threshold of Toxicological Concern (TTC) approach and development of new TTC decision tree, <https://www.efsa.europa.eu/en/supporting/pub/1006e>
- 4) Munro IC, Ford RA, Kennepohl E, Sprenger JG: Correlation of structural class with no-observed-effect levels: a proposal for establishing a threshold of concern: *Food Chem Toxicol.* **34**, 829-867, 1996.
- 5) Yang C, Barlow SM, Muldoon Jacobs KL, Vitcheva V, Boobis AR, Felter SP, Arvidson KB, Keller D, Cronin MTD, Enoch S, Worth A, Hollnagel HM. Thresholds of toxicological concern for cosmetics-related substances: New database, thresholds, and enrichment of chemical space. *Food Chem Toxicol.* **109**, 170-193, 2017.

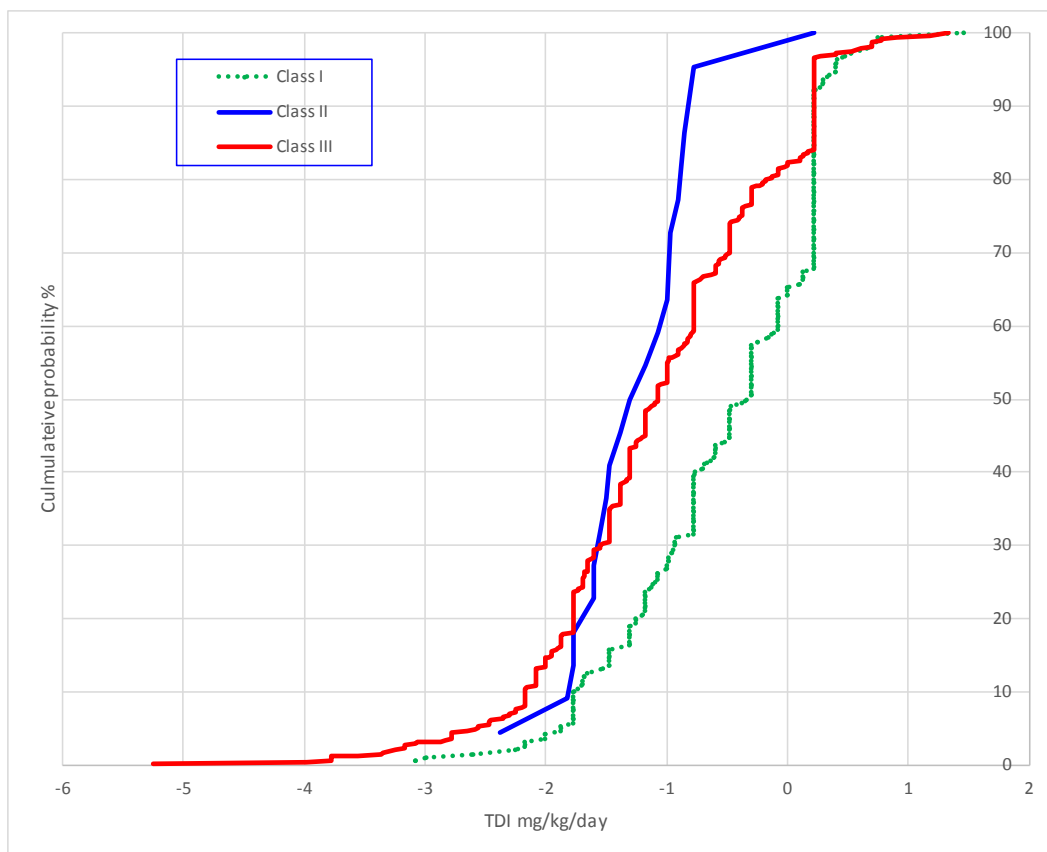


図2-1. HESS TTCデータセットに対するクラマークラスごとのNOELの対数累積分布図

表2-9. HESSデータベースから算出された非発がんTTC値とMunro及びCOSMOSデータベースのTTC値との比較

	クラス I	クラス II	クラス III
HESS TDI ($\mu\text{g}/\text{人}/\text{日}$)	800 (N=190)	348 (N=22)	166 (N=520)
Munro TDI ($\mu\text{g}/\text{人}/\text{日}$)	1800 (N=137)	546 (N=28)	90 (N=448)
COSMOS TDI ($\mu\text{g}/\text{人}/\text{日}$)	2500 (N=219)	350 (N=40)	470 (N=293)

表2-10. HESS TTCデータセットに対する遺伝毒性と発がん性のプロファイル

Class	Ames	Carcinogen	5%ile value	N	Observations
III	Negative	All	0.00167	266	For all Class III, so significant effect of Ames mutagenicity
		Non-carcinogen	0.00168	23	
		Carcinogen	0.00012	40	Ames-negative carcinogens may be more potent (for non-neoplastic lesions) than Ames-positive carcinogens.
III	Positive	All	0.00304	131	No significant differences due to Ames mutagenicity.
		Non-carcinogen	0.00833	11	
		Carcinogen	0.00232	53	Ames-positive carcinogens may be less potent (for non-neoplastic lesions) than the Ames-negative carcinogens.

Relative fractions in each dataset

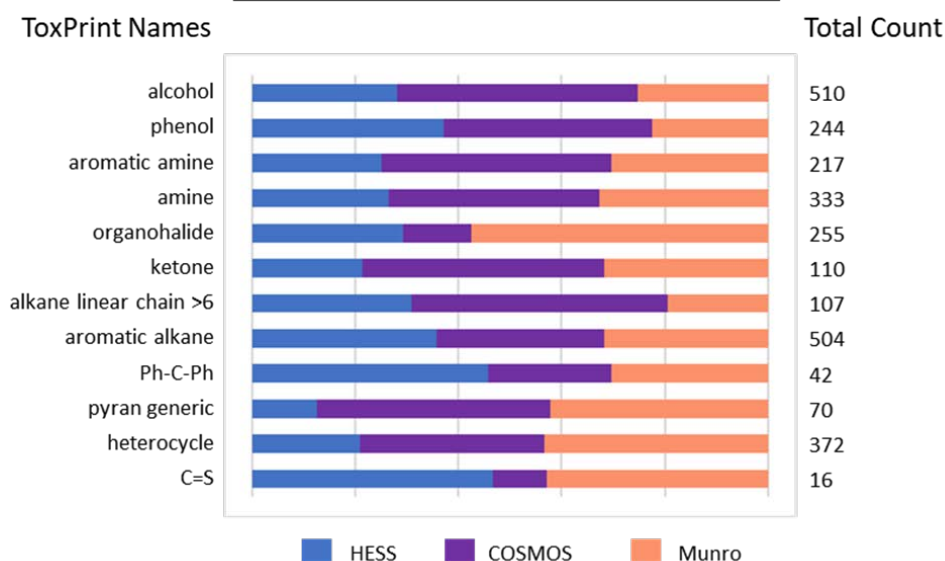


図2-2. HESS、COSMOS、Munro TTCデータセットのケミカルスペースの比較

2) 個別課題名：反復投与毒性のカテゴリーの拡充、構造アラートの抽出（吉成浩一（静岡県立大学）、山田隆志（国立医薬品食品衛生研究所））

2-1) 新たな毒性関連化学構造（カテゴリー）の抽出とそれに基づく毒性発現機序の理解並びに毒性予測を試みた。HESSに搭載されているラット28日間反復投与毒性試験結果が報告されている176物質を対象とし、記述子計算ソフトDragon 6を用いて196種の部分構造関連記述子を計算し、それらを説明変数、肝毒性関連所見を目的変数として決定木を用いた化学物質の分類を行った。選択した記述子は分子量（MW）、平均分子量（AMW）、脂溶性関連記述子（MLOGP）に加えて、分子内の各元素数、一重・二重・三重結合数などから、アルコール・エーテル・エステル・ケトン・*tert*アミン・ニトロソ・スルホン・ β ラクタム・ピリジン・芳香族アミン・チオフェンなど各種部分構造の数に関するものである。本解析では典型的な肝毒性の指標である血中ALTレベルの上昇（ALT↑）を対象とした。

その結果、ALT↑陽性の40物質は6つのグループに分けられ、その内の1グループはナフタレン骨格を有する5物質で形成されていた（うち1物質は偽陽性）。次に対象とした176化合物からナフタレン骨格を有する化合物を検索したところ、16化合物が抽出された。このうちALT↑陰性の12化合物の多くはスルホン基を持ち、水溶性が高いと考えられた。一般にナフタレン等のベンゼン環を有する化学物質は、エポキシ化による反応性代謝物の形成により肝毒性を発現することが知られているが、必ずしも全ての物質が肝毒性を示すわけではない。本解析の結果から、脂溶性が高いナフタレン骨格を有する化学物質が、ラット28日間試験においてALT↑陽性となる割合が高いと考えられた（図2-3）。

次に、試験期間を限定せずにHESSからナフタレン骨格を持つ物質を抽出したところ、29物質が得られた。これらについて、Dragon 6で計算可能な全記述子を計算し、Welchのt検定によりALT↑陽性物質と陰性物質の間で有意な差が認められた記述子を探索した。その結果、57記述子が見出されたことから、これらを説明変数、ALT↑の有無を目的変数として、上記29物質を決定木により分類した。その結果、記述子X0Av（average valence connectivity index of order 0）によって27物質（93%）が正しく分類された。X0Avは化合物の構造の複雑さ（トポロジー）を表す指標の一つであり、炭素鎖の分岐が多くなるほど小さくなり、また窒素原子や酸素原子等の原子の種類も反映することから分子の表面電荷等も反映した値である。以上の結果から、ナフタレン骨格を有する化学物質のうち、特定の分子構造や表面電荷を有するものがラットにおいて肝障害を誘発し、血中ALTレベルを上昇させることが示唆された。また、その判別に記述子X0Avが非常に有用であることが明らかになった。今後部分化学構造と本記述子を利用したインシリコ毒性予測モデルの構築が期待される。

次に、毒性試験情報を利用して部分化学構造と毒性所見の関連性を解析した。まず、当研究室で作成したラット毒性試験情報データベースに収載されている全毒性所見（90日間：587所見、2年間：614所見）から、肝臓との関連性が明確で、かつ1%以上の物質で陽性であった所見（90日間：65所見、2年間：69所見）を抽出し、これらを毒性学的な類似性から90日間試験では10種（過形成、肝機能亢進、肝機能低下、脂質代謝異常、脂肪化、傷害・壊死、胆管系障害、肥大、外観変化、その他）に、2年間試験では11種（90日間試験の所見グループ10種＋変異細胞巢）の肝関連所見グループに分類した。他方、解析対象

の物質（90日間：182物質、2年間：164物質）について、Dragon 7を用いて193種の構造関連記述子及びMW、脂溶性関連記述子（MOLoGP）を算出した。次に、構造関連記述子を説明変数、各肝関連所見グループの陽性・陰性を目的変数として、統計ソフトJMP Pro（ver. 13.0）を用いて決定木を作成し、各所見の決定木の陽性物質の葉に含まれる物質の化学構造を一覧化し、各所見グループの陽性群に特徴的な部分化学構造を探索した。

その結果、90日間試験において「肝機能低下」陽性の一つの物質群でピラゾール環が、「脂質代謝異常」陽性の一つの物質群でシアノ基が、「傷害・壊死」陽性群の一つの物質群でトリアゾール環が共通構造として見出された。2年間試験においては、「脂質代謝異常」陽性の一つの物質群でピラゾール環が、「脂肪化」陽性の一つの物質群でトリアゾール環が共通構造として見出された。そこでこれらの関連性をさらに検証するために、各所見の有無と各部分化学構造の有無のオッズ比を計算した（表 2-1 1、2-1 2）。その結果、90日間試験において、ピラゾール環と「肝機能低下」所見発現のオッズ比が3.36、シアノ基と「脂質代謝異常」所見発現のオッズ比は1.87、2年間試験において、ピラゾール環と「脂質代謝異常」所見発現のオッズ比は3.01、トリアゾール環と「脂肪化」所見発現のオッズ比は5.33と高い値が得られた。一方、トリアゾール環と「傷害・壊死」所見発現のオッズ比は1.10とそれほど高い値ではなかった。

さらに、決定木で見出された関連性以外についても、90日間試験ではピラゾール環と「肥大」所見発現、シアノ基と「過形成」、「脂肪化」及び「肥大」所見発現、トリアゾール環と「脂肪化」及び「胆管系障害」所見発現、2年間試験ではピラゾール環と「肝機能亢進」、「肥大」及び「変異細胞巣」所見発現、シアノ基と「脂質代謝異常」及び「肥大」、トリアゾール環と「肝機能亢進」及び「肥大」所見発現のオッズ比が2.00以上と高い値を示した。

これらの組み合わせのうち、トリアゾール環と「脂肪化」所見発現のオッズ比は7.66と解析した中で最大であった。さらに、トリアゾール環と「脂肪化」所見の発現、ピラゾール環又はシアノ基と「肥大」所見の発現は、90日間試験及び2年間試験でいずれも2以上のオッズ比を示し、部分化学構造と毒性発現機序の関連性が強く示唆された。化学物質による脂肪化や肝肥大、肝細胞肥大の発現機序は明確になっていないことから、機序解明に向けて有益な知見が得られた。

以上、本研究では分子記述子で表される化学構造情報と毒性試験情報を組み合わせ、統計学的手法を利用することで部分化学構造と毒性発現との関連性を見出すことができた。今後、これら知見の毒性発現機序解明、毒性予測モデルの開発、並びにカテゴリーアプローチへの応用が期待される。

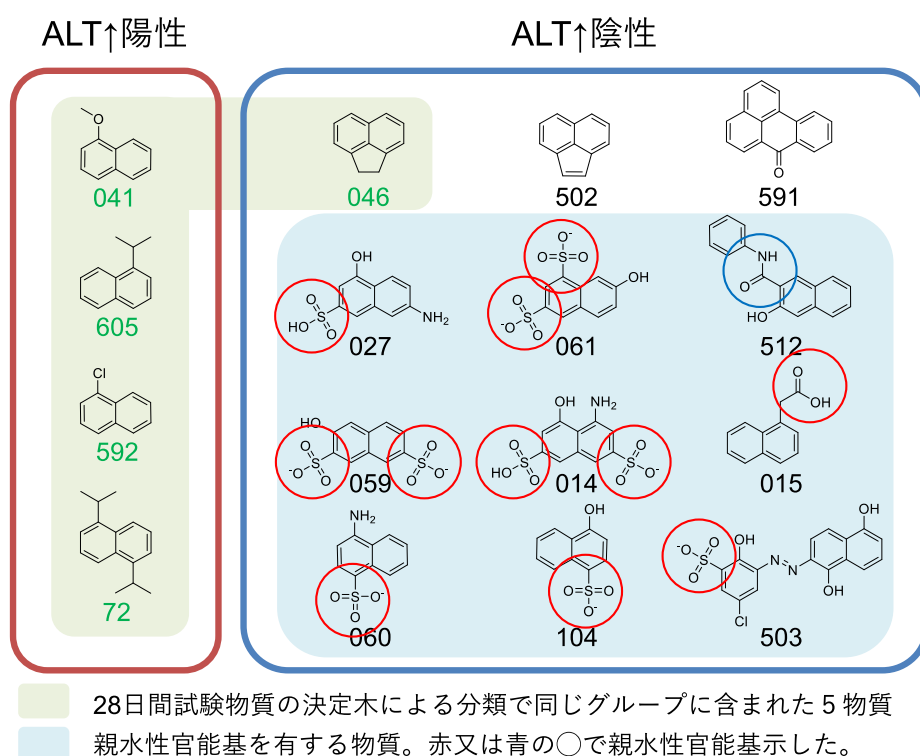


表2-11. ラット90日間反復投与毒性と部分化学構造のオッズ比

毒性所見		ピラゾール環 (20/182)			シアノ基 (19/182)			トリアゾール環 (13/182)		
		有	無	オッズ比	有	無	オッズ比	有	無	オッズ比
過形成 (3/182)	陽性	0	3	0.00	1	2	4.47	0	3	0.00
	陰性	20	159		18	161		13	166	
肝機能亢進 (83/182)	陽性	11	72	1.53	8	75	0.85	5	78	0.73
	陰性	9	90		11	88		8	91	
肝機能低下 (104/182)	陽性	16	88	3.36	12	92	1.32	8	96	1.22
	陰性	4	74		7	71		5	73	
脂質代謝異常 (80/182)	陽性	10	70	1.31	11	69	1.87	6	74	1.10
	陰性	10	92		8	94		7	95	
脂肪化 (23/182)	陽性	4	19	1.88	4	19	2.02	6	17	7.66
	陰性	16	143		15	144		7	152	
傷害・壊死 (94/182)	陽性	12	82	1.46	10	84	1.04	7	87	1.10
	陰性	8	80		9	79		6	82	
胆管系 (66/182)	陽性	9	57	1.51	8	58	1.32	8	58	3.06
	陰性	11	105		11	105		5	111	
肥大 (123/182)	陽性	17	106	2.99	16	107	2.79	9	114	1.09
	陰性	3	56		3	56		4	55	
外観 (30/182)	陽性	2	28	0.53	3	27	0.94	2	28	0.92
	陰性	18	134		16	136		11	141	

表2-12. ラット2年間反復投与毒性と部分化学構造のオッズ比

毒性所見		ピラゾール環 (15/164)			シアノ基 (18/164)			トリアゾール環 (12/164)		
		有	無	オッズ比	有	無	オッズ比	有	無	オッズ比
過形成 (6/164)	陽性	0	6	0.00	1	5	1.66	0	6	0.00
	陰性	15	143		17	141		12	146	
肝機能亢進 (41/164)	陽性	7	34	2.96	6	35	1.59	5	36	2.30
	陰性	8	115		12	111		7	116	
肝機能低下 (62/164)	陽性	6	56	1.11	9	53	1.75	5	57	1.19
	陰性	9	93		9	93		7	95	
脂質代謝異常 (49/164)	陽性	8	41	3.01	9	40	2.65	4	45	1.19
	陰性	7	108		9	106		8	107	
脂肪化 (30/164)	陽性	2	28	0.66	3	27	0.88	6	24	5.33
	陰性	13	121		15	119		6	128	
傷害・壊死 (54/164)	陽性	6	48	1.40	5	49	0.76	3	51	0.66
	陰性	9	101		13	97		9	101	
胆管系 (53/164)	陽性	6	47	1.45	5	48	0.79	3	50	0.68
	陰性	9	102		13	98		9	102	
肥大 (89/164)	陽性	11	78	2.50	14	75	3.31	9	80	2.70
	陰性	4	71		4	71		3	72	
外観 (27/164)	陽性	3	24	1.30	2	25	0.61	2	25	1.02
	陰性	12	125		16	121		10	127	
変異細胞巢 (41/164)	陽性	7	34	2.96	5	36	1.18	3	38	1.00
	陰性	8	115		13	110		9	114	

2-2) カテゴリーアプローチは、構造類似性に対し有害性が類似又は規則的なパターンを示す物質群をグループ化して評価を行う方法である。同じカテゴリーに属する類似物質の試験データを用いて未試験物質の有害性を推定する。カテゴリーは、化学構造や毒性の類似性だけでなく、体内動態、毒性発現メカニズムなど関連情報を統合して正当化し、同定されたメンバー物質をもとにカテゴリーの領域が定義される。食品健康影響評価書から作成したHESS拡充用の反復投与毒性データベースをもとに、変性・壊死など重篤な臓器毒性を示した物質を抽出したところ、有機リンによるコリンエステラーゼ阻害やフタル酸エステルの肝毒性など一部のクラスの物質において構造と毒性に関連性が認められたが、全体として物質数が少なく構造が多様であるが故、信頼性のあるカテゴリーの構築は困難であった。そこでHESSデータベース、COSMOSデータベース(欧州化粧品原材料の反復毒性データベース)、ToxRefデータベース(米国EPAの*in vivo*毒性試験データベース)の化学構造と毒性情報を統合して解析し、食品健康影響評価書の物質を含む新しい毒性カテゴリーの構築を試みた。

神経毒性は化学物質の有害性評価において不確実性係数の追加が検討される重要な毒性エンドポイントの一つである。特に神経細胞の変性・壊死は不可逆的であるとされ、重篤な毒性である。上記3つの毒性データベースから神経細胞に変性・壊死の所見を示した物質を検索したところ計43物質がヒットした(図2-4、表2-13)。これらの標的部位(末梢・脊髄・脳)を整理したところ、末梢で15物質(そのうち6物質は脊髄、4物質は脳にも毒性を示す)、脊髄で11物質(そのうち6物質は末梢、7物質は脳にも毒性を示す)、脳で32物質(そのうち4物質は末梢、7物質は脊髄にも毒性を示す)に分類された(図2-5)。次に、これらの化合物について体内への吸収及び血液脳関門への透過性にかかる物理化学的性質を検討した(表2-14)。化学物質が毒性を示すためには、経口投与後にある程度体内に吸収され、場合によって代謝を受けた後、組織に取り込まれることが必要である。経口医薬品の場合、一部例外もあるが適切な体内への吸収と動態を示すためには、次の4つの物理化学的性質がある一定の要件(生体膜を透過しやすく、*in vivo*でも有効である可能性が高いルール: リピンスキーのルール・オブ・ファイブ)を満たす化合物の特性をまとめた法則がある¹⁾。これは、①水素結合供与体(OH、NH)の数が5個以下、②分子量が500以下、③logP(脂溶性評価に用いられるファクター)が5以下、④水素結合受容体(N, O原子の数)が10以下からなる経験則である。そこでこれら物理化学パラメーターを計算したところ、43物質中42物質はリピンスキールール①~④のうち、いずれか三つに適合した(表2-13)。さらに43の神経毒性物質についてパラメーターの平均値と中央値を算出したところ、分子量(MW)については末梢318>脊髄276>脳157に対し、clogP/clogD(化合物の電離を考慮しLogPに酸解離定数(pKa)を加味した値)は、末梢2.07/2.17>脳1.50/1.62>脊髄1.50/0.57、また、水素結合受容体数は末梢(4.0)>脊髄(3.0)>脳(2.0)、水素結合供与体数は脊髄(1.0)>末梢、脳(0)の順となった(いずれも中央値参照)(表2-14)。マクロライド系抗生物質であるemamectinは、水素結合供与体数以外はリピンスキールール①~④の範囲から大きく外れていたが、抗生物質は本ルールに適合しないとされている。

中枢神経系(central nervous system; CNS)作用薬の創薬においては、候補化合物が脳内で期待する効果を発揮するために血液脳関門(blood brain barrier; BBB)を通過で

きるか否かが一つの鍵となる。CNS用薬は非CNS用薬と比べてBBBの透過性に係わる物理化学的性質が次のように限定されることが報告されている。分子量 (<450) はBBBの受動的な透過が期待され、市販経口薬 (n=329) の物性調査ではCNS用薬の分子量は310 Da (n=74) であり、末梢疾患用薬に比べより低分子の傾向となっている²⁾。cLogP及びcLogDは、構造から計算された脂溶性の度合いを表すオクタノール/水分配係数 (LogP、LogD) の常用体数であり、CNS用薬で非CNS用薬に比べて著しく高いと報告されており、さらに既存のCNS用薬の脂溶性に着目するとcLogP値が2付近であるときに脳透過性が最適とされ、かつcLogD値は1~3の範囲が推奨されている³⁾。極性表面積 (PSA) は、O原子とN原子に占有された極性を帯びている分子の表面積を示し、受動的な膜透過性と強く相関する。フェーズⅡの段階での末梢作用薬類 (n=1, 590) のPSAは120 Å²以下であるのに対し、CNS用薬 (n=776) の多くは60-70 Å²以下であることが報告されている⁴⁾。この閾値は市販のCNS用薬が少なくとも90 Å²以下であったことから支持されている⁵⁾。水素結合供与体数 (<3) 及び水素結合受容体数 (<7) は、ヒドロキシ基やアミノ基、N原子、O原子に基づく値でPSAと密接な関係がある。水素結合能力もBBB透過の重要な指標となり、分子内水素結合が増加すれば候補となる化合物のBBBの透過は相対的に減少する^{2, 6)}。

そこで、BBBの通過性に重要なこれら6項目の物性の範囲内に、今回検証する神経毒性を示す化合物の物性がどれだけ一致しているかについて調べた結果、脳神経に毒性を示す化合物が平均4.59項目となり最も多く合致した (表2-1 4B、C)。一方、脊髄に毒性を示す化合物は3.64、末梢神経に毒性を示す化合物は3.33となり、比較的、脳に毒性を示す化合物と近い値を示した (表2-1 4B、C)。これは図2-5に示したように、本解析における末梢神経と脊髄に毒性を示す化合物の多くは脳神経にも毒性を示しているためと考えられる。脳神経に毒性を示した32物質のうち、31物質では分子量が450未満、29物質ではPSAが60-70 Å²以下、30物質では水素結合受容体数が7未満、29物質では水素結合供与体数が3未満であった。これら4つのパラメーターの領域内への適合性が、神経毒性を示す化学物質のBBB透過性に対して寄与が大きいことが示唆された (図2-6)。

これら物質の脳神経毒性発現メカニズムは詳細には調べられていないが、生体高分子との反応性の観点から、①ハロゲン化アルキル構造を有している化合物は生体高分子の求核攻撃により付加体を形成する、②アルコール構造を有している化合物、また、エステル構造の化合物が加水分解を受けて生成するアルコール代謝体は、酸化代謝を受けて生成したアルデヒドへの生体高分子の付加を受ける、③α, β-不飽和ケトン構造を有している化合物は生体高分子によるMichael型付加反応により付加体を生成する、④酸化代謝により生成するエポキシドへ生体高分子が求核攻撃により付加体が生成する等、親電子物質が関与する毒性発現メカニズムが考えられた (図2-7) ⁷⁾。

以上の解析から、BBB透過に重要なパラメーターと脳神経における毒性発現に関与する可能性がある生体高分子との反応を介したメカニズムとの組み合わせに基づき、脳神経毒性物質カテゴリーを構築することができた。

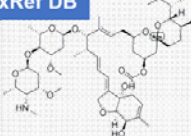
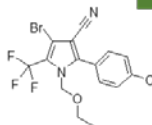
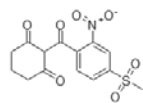
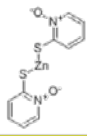
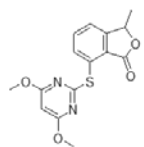
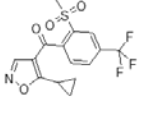
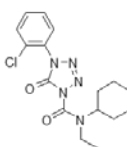
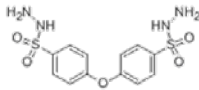
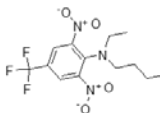
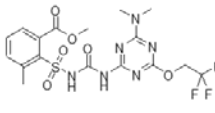
参考文献

- 1) Lipinski, CA, Lombardo, F, Dominy, BW, Feeney, PJ. Experimental and computational approaches to estimate solubility and permeability in drug discovery and development settings.

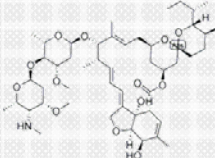
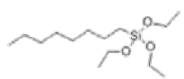
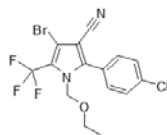
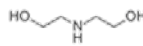
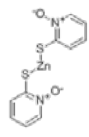
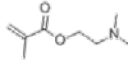
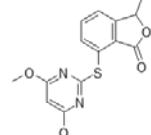
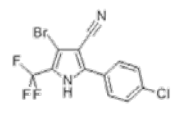
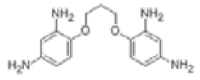
Adv Drug Delivery Rev. 23, 3-25, 1997.

- 2) Pajouhesh H, Lenz GR. Medicinal chemical properties of successful central nervous system drugs. *NeuroRx*, 2, 541-553, 2005.
- 3) Mensch J, Oyarzabal J, Mackie C, Augustijns P. In vivo, in vitro and in silico methods for small molecule transfer across the BBB. *J Pharm Sci*, 98, 4429-4468, 2009.
- 4) Kelder J, Grootenhuis PD, Bayada DM, Delbressine LP, Ploemen JP. Polar molecular surface area as a dominating determinant for oral absorption and brain permeation of drugs. *Pharm Res.* 16, 1 514-1519, 1999.
- 5) van de Waterbeemd H, Camenisch G, Folkers G, Chretien JR, Raevsky OA. Estimation of blood-brain barrier crossing of drugs using molecular size and shape, and H-bonding descriptors, *J Drug Target*, 151–165, 1998.
- 6) Alavijeh MS, Chishti M, Qaiser MZ, Palmer AM. Drug metabolism and pharmacokinetics, the blood-brain barrier, and central nervous system drug discovery, *NeuroRx*, 2, 554-571, 2005.
- 7) Macherey, A-H., Dansette, PM. Biotransformations leading to toxic metabolites: Chemical aspect. In *The Practice of Medicinal Chemistry* (Warmth,C. G., Eds), 3rd Edition, Academic Press: London, 2008, pp.674-696.

Sciatic nerve (SN)

ToxRef DB  155569-91-8: emamectin benzoate Degeneration nerve fiber • Degeneration (ToxRef DB: SC) • Degeneration (ToxRef DB: Brain)	HESS DB (HPV chemical)  97-63-2 Ethyl methacrylate Degeneration nerve fiber • Degeneration, nerve fiber (HESS DB (HPV chemical) : Brain)	FSCJ DB  122453-73-0: Chlorfenapyr spongiform change, myelin sheath • spongiform change, myelin sheath (FSCJ DB: SC)  104206-82-8: Mesotrione demyelination
COSMOS DB  13463-41-7 pyrrithione zinc Degeneration Nerve Fiber • Degeneration (COSMOS DB: SC)	HESS DB  79-39-0 Methacrylamide Degeneration nerve fiber • Swelling, axonal, cerebella peduncle (HESS DB: Brain)  121-45-9: Trimethyl phosphite Degeneration, nerve fiber • Otherfindings, Degeneration nerve fiber (HESS DB: SC) • Chromatolysis, neuronal, central, pons (HESS DB: Brain)	 135186-78-6: Pyrritalid Demyelination • demyelination of the lumbar vertebrae spinal nerve root (FSCJ DB: SC)  141112-29-0: Isoxaflutole degeneration, axon/myelin  158237-07-1: Fentrazamide degeneration nerve fiber
$\text{Cs}^+ \text{Cl}^-$ 7647-17-8: Caesium chloride Degeneration  79-06-1: Acrylamide Axon degeneration/Schwann cell degeneration • Degeneration nerve fiber (HESS DB: SC)	 80-51-3: 4,4'-Oxybis(benzenesulfonyl hydrazide) Degeneration, nerve fiber	 1861-40-1: Bentfluralin degeneration  126535-15-7: Triflurosulfuron-methyl degeneration nerve fiber

Spinal cord (SC)

ToxRef DB  155569-91-8: emamectin benzoate Degeneration • Degeneration nerve fiber (ToxRef DB: SN) • Degeneration (ToxRef DB: Brain)	HESS DB (HPV chemical)  2943-75-1: Triethoxy(octyl)silane Degeneration, nerve fiber • Degeneration of white matter, cerebellum/medulla (HESS DB (HPV chemical) : Brain)	HESS DB  121-45-9: Trimethyl phosphite Otherfindings, Degeneration nerve fiber • Degeneration nerve fiber (HESS DB: SN) • Chromatolysis, neuronal, central, pons (HESS DB: Brain)	FSCJ DB  122453-73-0: Chlorfenapyr spongiform change, myelin sheath • spongiform change, myelin sheath (FSCJ DB: SN)
 111-42-2: Diethanolamine Demyelination • Degeneration nerve fiber (HESS DB: SC) • Demyelination (ToxRef DB: Brain) • Degeneration nerve fiber (HESS DB: Brain)	COSMOS DB  13463-41-7: pyrrithione zinc Degeneration • Degeneration Nerve Fiber (COSMOS DB: SN)	 2867-47-2: 2-(Dimethylamino)ethyl methacrylate Degeneration nerve fiber • Degeneration, nerve fiber (HESS DB: Brain)	 135186-78-6: Pyrritalid demyelination of the lumbar vertebrae spinal nerve root • Demyelination (FSCJ DB: SN)
 122454-29-9 4-Bromo-2-(4-chlorophenyl)-5-(trifluoromethyl)-1H-pyrrole-3-carbonitrile Demyelination • Demyelination (ToxRef DB: Brain)	 81892-72-0: 4,4'-(1,3-propanediylbis(oxy))bisbenzene-1,3-diamine Degeneration • Degeneration (COSMOS DB: Brain)	111-42-2: Diethanolamine Degeneration nerve fiber • Demyelination (ToxRef DB: SC) • Demyelination (ToxRef DB: Brain) • Degeneration nerve fiber (HESS DB: Brain)  79-06-1: Acrylamide Degeneration nerve fiber • Axon degeneration/Schwann cell degeneration (HESS DB: SN)	

Brain

ToxRef DB 1825-21-4 Pentachloroanisole Congestion	122454-29-9 4-Bromo-2-(4-chlorophenyl)-5-(trifluoromethyl)-1H-pyrrole-3-carbonitrile Vasodilation • Vasodilation (ToxRef DB: SC)	31512-74-0 polixetonium chloride Mineralization	HESS DB (HPV chemical) 97-63-2: Ethyl methacrylate Degeneration, nerve fiber • Degeneration, nerve fiber (HESS DB (HPV chemical): SN) 115-96-8: Tris(2-chloroethyl) Phosphate Necrosis and loss of thalamic nuclei • Necrosis (ToxRef DB: Brain)
107-06-2 1,2-dichloroethane Mineralization Necrosis (HESS DB: Brain)	68424-85-1 alkyl dimethyl benzyl ammonium chloride (50% c14, 40% c12, 10% c16) Congestion	26628-22-8: Sodium azide Necrosis • Necrosis (HESS DB: Brain)	993-16-8: Methyltin trichloride Loss of perikarya, pyramidal layer/piriform cortex 2943-75-1: Triethoxy(octyl)silane Degeneration of white matter, cerebellum/modula • Degeneration, nerve fiber (HESS DB (HPV chemical): SC)
111-42-2 Diethanolamine Demyelination Demyelination (ToxRef DB: SC) • Degeneration nerve fiber (HESS DB: SC) • Degeneration nerve fiber (HESS DB: Brain)	60-57-1: Dieldrin Necrosis	7673-09-8: Trichloromelamine Congestion	COSMOS DB 81892-72-0: 4,4'-(1,3-propanediylbis(oxy))bisbenzene-1,3-diamine Degeneration • Degeneration (COSMOS DB: SC)
107-21-1 ethylene glycol Crystals	115-96-8 tris(2-chloroethyl) phosphate Necrosis • Necrosis and loss of thalamic nuclei (HESS DB (HPV chemical): Brain)	155569-91-8: omamectin benzoate Degeneration • Degeneration (ToxRef DB: SN) • Degeneration (ToxRef DB: SC)	100-51-6: Benzyl alcohol Necrosis • Necrosis (HESS DB: Brain) 100-52-7: Benzaldehyde Necrosis • Degeneration/necrosis (HESS DB: Brain)
140-11-4 benzyl acetate Necrosis • Necrosis (HESS DB: Brain)			

HESS DB 79-39-0: Methacrylamide Swelling, axonal, cerebella peduncle • Degeneration nerve fiber (HESS DB: SN)	129-79-3: Trinitrofluorenone (Pigment accumulation)	100-52-7: Benzaldehyde Degeneration/necrosis Necrosis (COSMOS DB: Brain)	76231-76-0: α,β-Thujone Congestion
121-45-9: Trimethyl phosphite Chromatolysis, neuronal, central pons • Degeneration, nerve fiber (HESS DB: SN) • Other findings, Degeneration nerve fiber (HESS DB: SC)	111-42-2: Diethanolamine Degeneration nerve fiber • Demyelination (ToxRef DB: Brain) • Demyelination (ToxRef DB: SC) • Degeneration nerve fiber (HESS DB: SC)	26628-22-8: Sodium azide Necrosis • Necrosis (ToxRef DB: Brain)	123-91-1: 1,4-Dioxane Vacuolic change
109-70-6: 1-Bromo-3-chloropropane Degeneration, vacuolar	100-51-6: Benzyl Alcohol Necrosis • Necrosis (COSMOS DB: Brain)	140-11-4: Benzyl acetate Necrosis • Necrosis (ToxRef DB: Brain)	FSCJ DB 23103-98-2: Pirimicarb Necrosis
2667-47-2: 2-(Dimethylamino)ethyl methacrylate Degeneration, nerve fiber • Degeneration, nerve fiber (HESS DB: SC)	556-52-5: Glycidol Necrosis	3030-47-5: N-Methyl-N,N-bis(2-dimethylamino-ethyl) amine Vacuolation, choroid plexus	25806-41-1: propamocarb hydrochloride Vacuolization
107-06-2: 1,2-Dichloroethane Necrosis Mineralization (ToxRef DB: Brain)	110-02-1: Thiophene Necrosis of granular cells	98-95-3: Nitrobenzene Spongiotic change, Necrosis/Gliosis	

図2-4. HESS、COSMOS及びToxRefデータベースから抽出した神経毒性物質

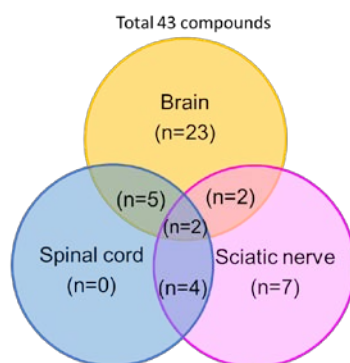


図2-5. 脳・脊髄・末梢に分類された神経毒性を示す化合物群のベン図解析

表2-13. 神経毒性物質のリストとBBB透過に係る物理化学パラメーター

CAS	Compound name	DB	Target	Histopathology	MW	HBA	HBD	cLogP	cLogD	PSA/ Å²	BBB permeability	
100-51-6	benzyl alcohol	COSMOS DB HESS DB	Brain Brain	Necrosis Necrosis	108.138		1	1	1.03	1.21	20	6
100-52-7	benzaldehyde	COSMOS DB HESS DB	Brain Brain	Necrosis Degeneration/Necrosis	106.122		1	0	1.64	1.61	17	6
104206-82-6	mesotrine	FSCJ DB	Sciatic nerve	Demyelination	339.320		8	0	-0.70	-1.55	140	2
107-09-2	1,2-dichloroethane/ethylene dichloride	ToxRef DB HESS DB	Brain Brain	Mineralization Necrosis	98.959		0	0	1.41	1.72	0	6
107-21-1	ethylene glycol	ToxRef DB	Brain	Crystals	62.068		2	2	-1.69	-1.25	40	4
109-70-6	1-Bromo-3-chloropropane	HESS DB	Brain	Degeneration, vacuolar	157.437		0	0	2.18	2.31	0	6
110-02-1	Thiophene	HESS DB	Brain	Necrosis of granular cells	84.140		0	0	1.90	1.71	28	6
111-42-2	diethanolamine	ToxRef DB ToxRef DB HESS DB HESS DB	Brain Spinal Cord Brain Spinal cord	Demyelination Demyelination Degeneration Nerve Fiber Degeneration Nerve Fiber	105.136		3	3	-1.5	-2.71	52	3
115-96-8	tris(2-chloroethyl) phosphate/tris(beta-chloroethyl)phosphate/ethanol, 2-chloro-, phosphate (3:1)/tris(2-chloroethyl)phosphate	ToxRef DB	Brain	Necrosis	285.49		4	0	0.48	1.42	55	5
121-45-9	Trimethyl phosphite	HESS DB (HPV chemical) HESS DB HESS DB	Brain Brain Spinal cord Sciatic nerve	Necrosis and loss of thalamic nuclei Chromatolysis, neuronal, central, pons Degeneration Nerve Fiber Degeneration Nerve Fiber	124.076		3	0	-0.93	-0.09	41	4
122453-73-0	chlorfenapyr	FSCJ DB FSCJ DB	Spinal cord Sciatic nerve	spongiform change, myelin sheath spongiform change, myelin sheath	407.613		3	0	5.16	4.76	38	4
122454-29-9	tralopyril	ToxRef DB ToxRef DB	Brain Spinal Cord	Vacuolization Vacuolization	349.534		2	1	5.65	4.72	40	4
123-91-1	1,4-Dioxane	HESS DB	Brain	Vacuolic change	88.105		2	0	-0.27	-0.29	18	4
126535-15-7	trifluoromethyl	FSCJ DB	Sciatic nerve	Degeneration Nerve Fiber	492.430		12	2	3.57	0.83	161	1
129-79-3	Trinitrofluorenone	HESS DB	Brain	Pigment accumulation	315.195		10	0	3.01	2.71	155	3
13463-41-7	pyrithione zinc	COSMOS DB COSMOS DB	Spinal cord Sciatic nerve	Degeneration Degeneration Nerve Fiber Degeneration Nerve Fiber	127.164		2	1	-0.05	-2.81	56	4
135186-78-6	pyrithalid	FSCJ DB FSCJ DB	Spinal cord Sciatic nerve	Demyelination of the lumbar vertebral spinal nerve root Demyelination	318.348		6	0	2.25	2.84	96	5
140-11-4	benzyl acetate/acetic acid, phenylmethyl ester/ acetic acid, benzyl ester	ToxRef DB HESS DB	Brain Brain	Necrosis Necrosis	150.174		2	0	1.93	1.94	26	6
141112-29-0	isoxaflole	FSCJ DB	Sciatic nerve	Degeneration, axon/myelin	359.320		5	0	1.67	2.46	86	5
155569-91-6	emamectin benzoate	ToxRef DB ToxRef DB ToxRef DB ToxRef DB	Brain Spinal Cord Brain Sciatic Nerve	Degeneration Degeneration Degeneration Degeneration	888.13		14	3	6.84	4.99	162	1
158237-07-1	fentazamide	FSCJ DB	Sciatic nerve	Degeneration Nerve Fiber	349.815		7	0	2.40	2.86	69	5
1825-21-4	pentschloranisole	ToxRef DB	Brain	Congestion	280.363		1	0	4.97	5.53	9	4
1861-40-1	benfluralin	FSCJ DB	Sciatic nerve	Degeneration	335.279		7	0	5.41	5.19	95	2
80-51-3 (1978-16-6)	4,4'-Oxybis(benzenesulfonyl hydrazide)	HESS DB	Sciatic nerve	Degeneration Nerve Fiber	296.531		1	0	9.16	8.57	13	4
23109-98-2	pinimicarb	FSCJ DB	Brain	Necrosis	238.286		6	0	1.70	1.73	59	6
25006-41-1	propamocarb hydrochloride	FSCJ DB	Brain	Vacuolization	188.267		4	1	1.12	-0.68	42	5
26628-22-8	sodium azide	ToxRef DB HESS DB	Brain Brain	Necrosis Necrosis	65.01		3	0	-0.15	-0.15	34.14	4
2867-47-2	2-(Dimethylamino)ethyl methacrylate	HESS DB HESS DB	Brain Spinal cord	Degeneration Nerve Fiber Degeneration Nerve Fiber	157.210		3	0	1.50	0.57	30	5
2943-75-1	Triethoxy(octyl)silane	HESS DB (HPV chemical) HESS DB	Brain Spinal cord	Degeneration of white matter, cerebellum/medulla Degeneration Nerve Fiber	276.488		3	0	5.45	4.84	28	4
3030-47-5	N-Methyl-N,N-bis (2-dimethylamino-ethyl) amine	HESS DB	Brain	Vacuolation, choroid plexus	173.289		3	0	0.54	-1.82	10	4
31512-74-0	poliactonum chloride	ToxRef DB	Brain	Mineralization	259.219		1	0	-7.28	-7.28	9.23	4
556-52-5	Glycidol	HESS DB	Brain	Necrosis	74.078		2	1	-0.95	-0.74	33	4
60-57-1	dieldrin	ToxRef DB	Brain	Necrosis	380.909		1	0	4.88	4.94	13	4
68424-65-1	alkyl dimethyl benzyl ammonium chloride	ToxRef DB	Brain	Congestion	283.88		1	0	2.55	3.02	0	5
76231-76-0	α,β-Thujone	HESS DB	Brain	Congestion	152.233		1	0	1.90	2.50	17	6
7647-17-8	Cesium chloride	HESS DB	Sciatic nerve	Degeneration	168.360		0	0n/a	n/a	n/a		1
7673-09-8	trichloromethine	ToxRef DB	Brain	Congestion	229.455		6	3	1.46	1.62	75	4
79-06-1	Acrylamide	HESS DB HESS DB	Spinal cord Sciatic nerve	Degeneration Nerve Fiber Axon degeneration/Schwann cell degeneration	71.078		2	2	-0.78	-0.67	43	4
79-39-0	Methacrylamide	HESS DB HESS DB	Brain Sciatic nerve	Swelling, axonal, cerebella peduncle Degeneration Nerve Fiber	85.104		2	2	-0.23	-0.12	43	4
81892-72-0	4,4'-(1,3-propanediylbis(oxy))bisbenzene-1,3-diamine	COSMOS DB COSMOS DB COSMOS DB COSMOS DB	Brain Brain Spinal cord Spinal cord	Degeneration Degeneration Degeneration Degeneration	288.345		6	8	-0.52	0.27	123	2
97-63-2	Ethyl methacrylate	HESS DB (HPV chemical) COSMOS DB	Brain Spinal cord	Degeneration Nerve Fiber Degeneration Nerve Fiber	114.142		2	0	1.88	1.87	26	6
98-95-3	Nitrobenzene	HESS DB	Brain	Necrosis/Glissis	123.109		3	0	1.95	1.81	46	6
993-16-8	Methyltin trichloride	HESS DB (HPV chemical)	Brain	Loss of perikarya, pyramidal layer/piriform cortex	238.088		0	0n/a	n/a	n/a	0	4

表2-14. 化合物の神経各標的部位(全体及び末梢・脊髓・脳)における物理化学的性質(A)、
血液脳関門(BBB)への透過性(B)及びBBBへの透過性に対するカウント数(C)

(A) Physical Chemical Properties ¹⁾

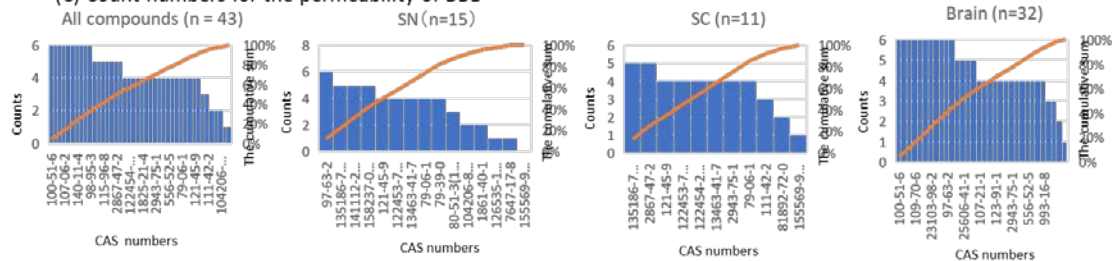
Physical Chemical Properties	All compounds (n = 43)		Sciatic nerve (n = 15)		Spinal Cord (n = 11)		Brain (n = 32)	
	mean	median	mean	median	mean	median	mean	median
Molecular weight	228	188	298	318	283	276	204	157
clogP	1.72	1.67	2.55	2.07	2.10	1.50	1.37	1.50
clogD	1.47	1.71	2.08	2.17	1.52	0.57	1.22	1.62
Hydrogen bond acceptors (sum of N + O)	3.45	2.50	5.29	4.00	4.27	3.00	2.88	2.00
Hydrogen bond donors (sum of NH + OH)	0.71	0.00	0.71	0.00	1.64	1.00	0.78	0.00

¹⁾ Calculations of physical properties are those provided in the ChemSpider using ACD/PhysChem Suite.

(B) Permeability of the blood-brain barrier (BBB) ^{2) - 7)}

	All compounds (n = 43)	Sciatic nerve (n = 15)	Spinal Cord (n = 11)	Brain (n = 32)
Molecular weight < 450	41	13	10	31
clogP (1 ≤ cLogP ≤ 3)	17	4	2	14
clogD (1 ≤ cLogP ≤ 3)	16	4	1	13
PSA ≤ 60-70 Å ²	33	8	8	29
Hydrogen bond acceptors < 7	36	9	10	30
Hydrogen bond donors < 3	38	14	8	29
BBB: counts (mean) / 6	4.31 / 6	3.33 / 6	3.64 / 6	4.59 / 6

(C) Count numbers for the permeability of BBB



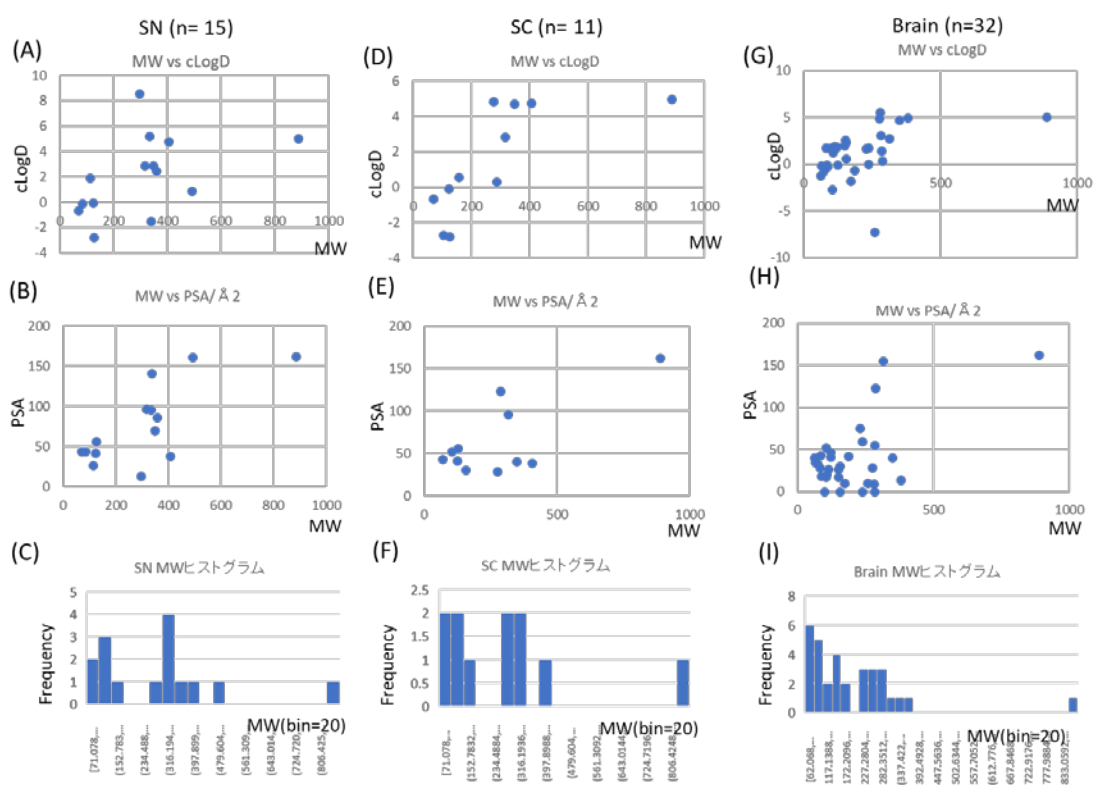


図2-6. 神経毒性物質の標的部位(脳・脊髄・末梢)ごとの物理化学的性質の関係(A、B、D、E、G、H)と分子量の分布(C、F、I)

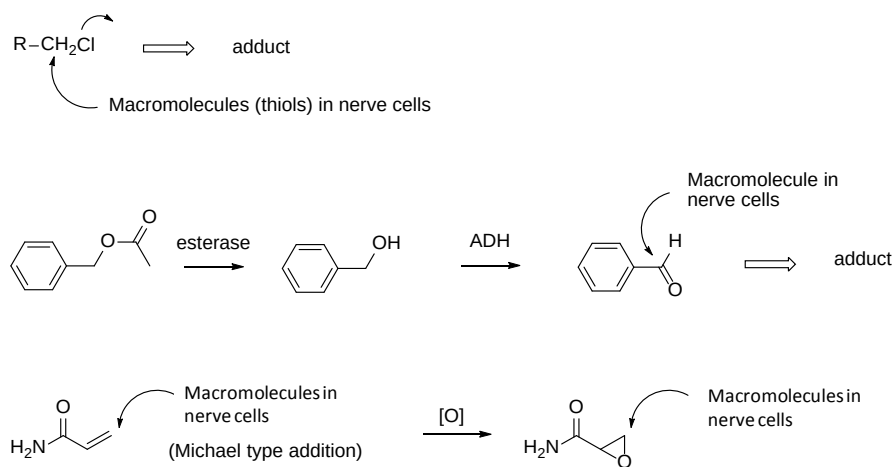


図2-7. 生体高分子との反応を介した想定される神経毒性発現機序の例

3) 個別課題名：毒性予測への応用研究（吉成浩一（静岡県立大学）、頭金正博（名古屋市立大学））

上記（1）で作成したデータベース及びHESSデータベースに格納されている毒性試験情報を用いて定量的構造活性相関（QSAR）モデルを基盤とした機械学習法を用いる肝毒性等の毒性予測モデルを構築することを目的とした。具体的にはそれぞれのデータベースに格納されている化合物の構造情報を記述子計算ソフトDragon 6を用いて数値化した後、データベース中の化合物をランダムに2群に分け、一方の群（トレーニングセット）を用いて、Deep Learning(DL)やRandom Forest(RF)、Support Vector Machine(SVM)などにより、QSARモデルを構築し、他の群（テストセット）の化合物の肝毒性を予測させることで各モデルの性能を比較した。また、予測結果の信頼性を高めるためテストセットには適用領域を設定した。3種類のデータセットを作成し、1つ目は農薬を中心とした食品に関する化学物質の評価書データ346物質（陽性122物質、陰性224物質）、2つ目はHESSデータ503物質（陽性339物質、陰性164物質）、3つ目は重複を除いて評価書とHESSをあわせたcombinedデータ810物質（陽性425物質、陰性385物質）とした。陽性は28日間以上の反復投与毒性試験の情報から肝細胞肥大に関する所見が見られた物質とし、陰性は90日間以上の試験を行っても肝細胞肥大に関する所見が見られなかった物質と定義した。作成したモデルを用いてラットの肝細胞肥大を予測させたところHESSデータのみを使用したSVMにおいて最も良い予測能を示し、予測精度76.0%、感度0.90が得られた（表2-15）。さらに3つの機械学習法(DL、RF、SVM)の結果を統合したコンセンサスモデルを作成した。コンセンサスモデルでは2つ以上のモデルの予測結果が一致したものを、その物質の予測結果とした。図2-8にcombinedデータのコンセンサスモデルの結果を示した。3つのモデル(DL、RF、SVM)とも予測が正しかった物質は204個であり、いずれのモデルでも予測が外れた物質は78個だった。3つの機械学習法で予測が外れた物質において、combinedデータと評価書データで共通していた物質は10個中9個が偽陽性だった。偽陽性の物質はラット以外のマウスやイヌでは反復投与毒性試験において肝細胞肥大が見られている場合があり、予測モデルの開発において種差の検討が今後の課題の一つとなると考えられる。機械学習法の種類による予測モデルの性能に大きな差はなく、コンセンサスモデルでも予測性能が大幅に改善されることはなかった。しかし、新規物質の毒性評価に使用する場合、複数のモデルが同一の予測結果を示すことを確認することは重要だと思われる。

表2-15. 機械学習法によるラットの肝細胞肥大の予測結果

Dataset	Model	ACC	Sensitivity	Specificity	Precision	F-measure	AUC
評価書	DL	0.71	0.58	0.78	0.59	0.59	0.76
	RF	0.75	0.58	0.84	0.67	0.62	0.81
	SVM	0.75	0.67	0.79	0.64	0.66	0.81
	Consensus	0.74	0.62	0.81	0.64	0.63	-
HESS	DL	0.74	0.87	0.49	0.78	0.82	0.80
	RF	0.76	0.88	0.50	0.78	0.83	0.74
	SVM	0.76	0.90	0.46	0.77	0.83	0.81
	Consensus	0.76	0.90	0.47	0.78	0.83	-
Combined	DL	0.69	0.79	0.56	0.71	0.74	0.70
	RF	0.68	0.84	0.46	0.68	0.75	0.71
	SVM	0.69	0.77	0.58	0.71	0.74	0.73
	Consensus	0.70	0.81	0.55	0.71	0.76	-

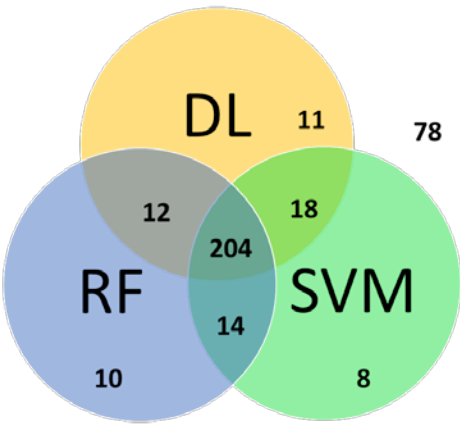


図2-8. Combinedデータを用いたコンセンサスモデルの結果

(3) 研究項目名：毒性発現機序のインビボ・インビトロ検証試験

1) 個別課題名：毒性発現機序に関する検証試験（吉成浩一（静岡県立大学））

上記（2）の2）で見出したラット28日間反復投与毒性試験における「ALT↑」陽性とナフタレン骨格の関連性の検証試験の構築を目的に、インビボでの「ALT↑」陽性をインビトロ試験で再現可能か否かを検討した。

まずラット肝癌由来のH4IIE細胞を用いた実験を行った。H4IIE細胞を96ウェルプレートに 2.5×10^4 細胞/ウェルで播種し、24時間後に溶媒又は被験物質を含む培地に交換してさらに24時間培養した後、培養上清中のLDH活性を測定するとともに、WST-8アッセイにより生細胞数を測定した（図3-1）。被験物質には、ラット28日間反復投与毒性試験において「ALT↑」陽性であった3物質（HESS #41: 1-methoxynaphthalene、#463: 2-isobut-oxynaphthalene、#592: 1-chloronaphthalene）、「ALT↑」陰性であった2物質（#14: monosodium 4-amino-5-hydroxy-2,7-naphthalenedisulfonate、#15: 1-naphthyl-acetic acid）を用いた。また、陽性対照にはナフタレン骨格を有さないが、細胞毒性を示すことが予め分かっていた細胞傷害陽性物質（#10: *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide）及び界面活性剤が含まれ、細胞を破壊するLDH測定キット付属のLysis bufferを、陰性対照には溶媒であるdimethyl sulfoxide（DMSO；最終濃度0.1%）及び培地（添加物質なし）を用いた。

その結果、陽性対照である#10及びLysis bufferではLDH活性の増加や細胞数の低下が認められ、細胞死が起こっていると考えられたが、5種のナフタレン関連物質では明確なLDH活性の増加は認められなかった。細胞数に関しては、「ALT↑」陽性の#592において最高濃度（300 μ M）で減少が認められた。一方、同じく「ALT↑」陽性の#41や#463では、「ALT↑」陰性の#14や#15と同様に明確な変化は認められなかった。薬物処置時間を48時間に延長して同様の実験を行ったが、300 μ Mの#592処置時にLDH活性の増加が認められた以外には24時間処置時と大きな差は認められなかった。以上の結果から、H4IIE細胞では、#592は細胞毒性を示すが、#41や#463は細胞毒性を示さず、インビボ試験の代替評価系の構築は困難であると考えられた。

そこで次に、薬物代謝活性が比較的保持されている初代培養ラット肝細胞を用いた試験を実施した。凍結初代培養ラット肝細胞（オリエンタル酵母工業）を96ウェルプレートに 5.0×10^4 細胞/ウェルで播種し、6時間後に被験物質等を含む培地に交換して48時間培養した後、上記と同様に培地中のLDH活性及び細胞数を測定した（図3-2）。被験物質はH4IIE細胞の場合と同様とした。その結果、陽性対照の#10では、LDH活性の上昇及び細胞数の低下が認められたのに加えて、「ALT↑」陽性の#463及び「ALT↑」陰性の#14において、濃度依存的な細胞数の減少が認められた。#463ではLDHレベルの増加傾向も認められた。一方、H4IIE細胞で細胞毒性を示した#592（「ALT↑」陽性）では明確な細胞毒性は認められなかった。また、「ALT↑」陽性の#41ではH4IIE細胞と同様に細胞毒性は認められなかった。以上の結果から、ラット肝細胞を用いた細胞傷害性試験においても、ラットインビボにおける「ALT↑」の試験結果を反映する試験結果は得られなかった。

以上本研究では、ナフタレン関連物質のインビボにおけるラット肝毒性をインビトロ試験で検証することを目指したが、試験系の確立には至らなかった。LDH等の逸脱酵素の培地中活性や細胞数の測定は、化学物質の細胞傷害性を評価する試験としてしばしば利用されている。しかしながら、本研究の結果では、必ずしも本試験がインビボにおける肝

毒性を反映する試験系ではないことが示唆された。今後、様々なインビトロ試験系とインビボ毒性の関連性を広く体系的に評価し、インビボ毒性を反映する試験系の同定・確立や、複数試験の組み合わせを明らかにすることで、インシリコ手法によるインビボ毒性の予測結果をインビトロ試験系により検証することが可能となり、インシリコ手法による毒性予測評価系の確立においてインビボ毒性試験データベースの有効利用が期待される。

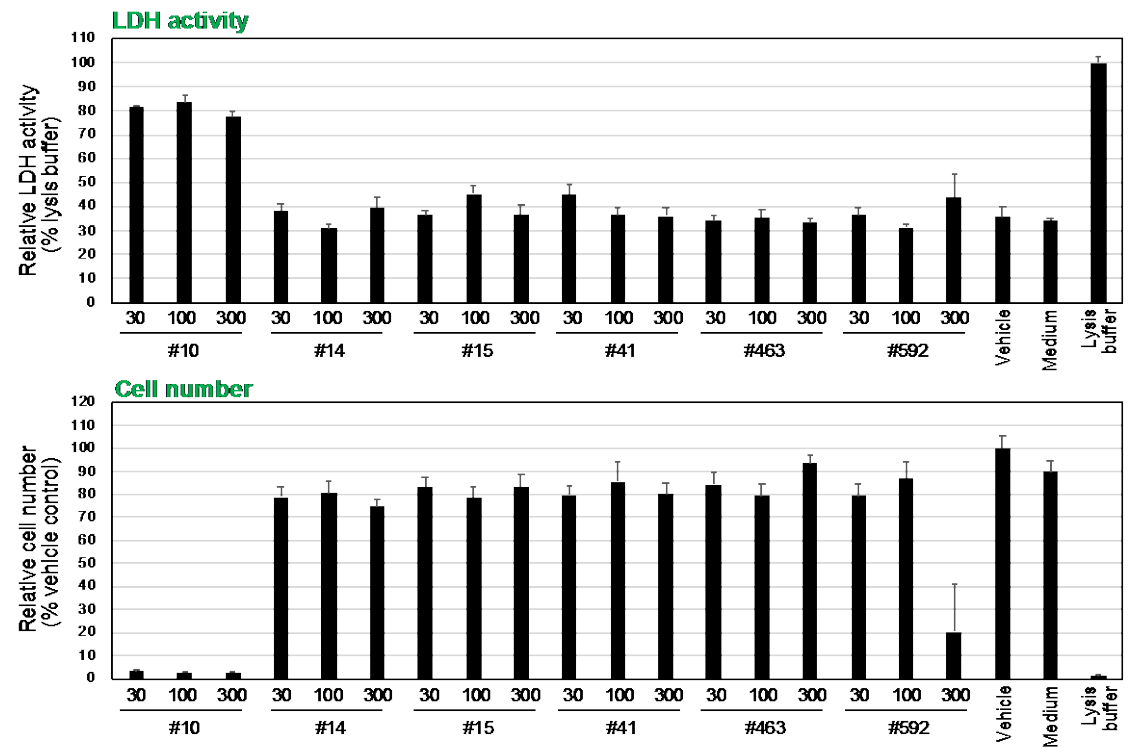


図3-1. H4IIE細胞におけるナフタレン関連物質の細胞毒性評価試験

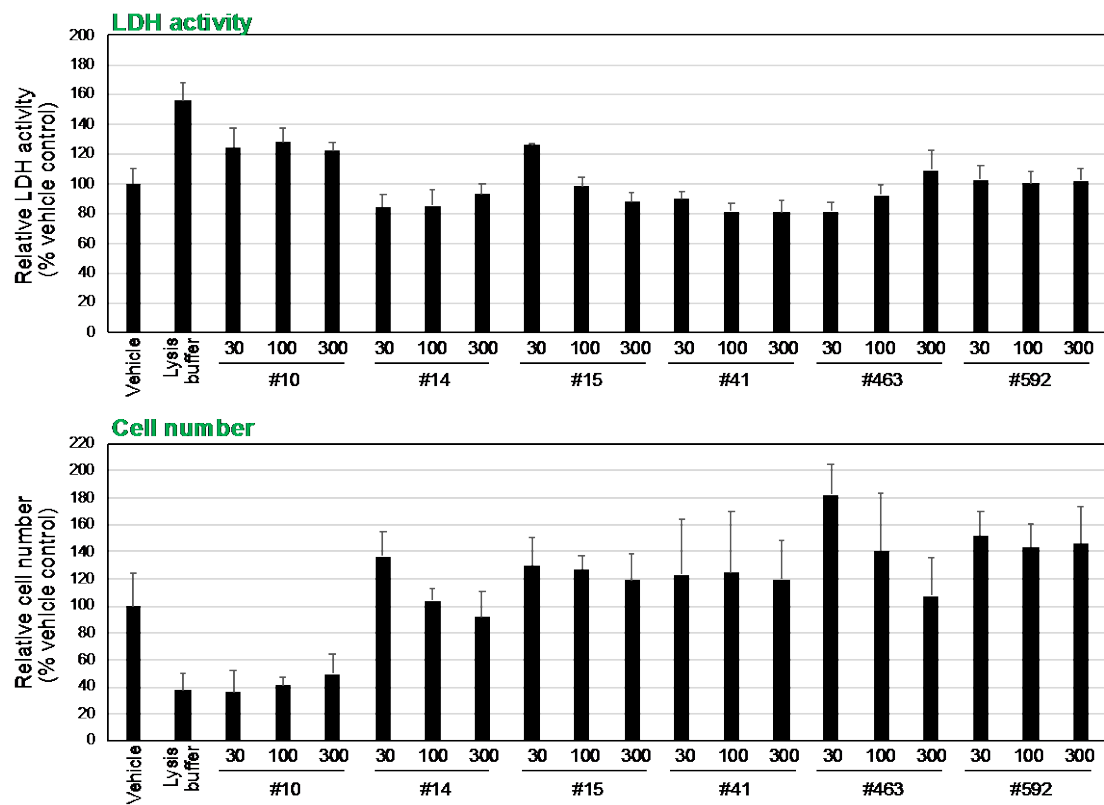


図3-2. 初代培養ラット肝細胞におけるナフタレン関連物質の細胞毒性評価試験

2) 個別課題名：毒性予測に関する検証試験（吉成浩一（静岡県立大学））

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り、毒性発現予測には、代謝情報が有用であるが、評価書やHESSには代謝情報が十分に掲載又は搭載されていない。HESS搭載化合物の代謝情報を充実させることは、HESSを用いたインシリコ手法による毒性予測結果に対する専門家判断のサポートに重要である。最近吉成らは、一般化学物質の毒性予測手法の開発研究において、主要な薬物代謝酵素群であるシトクロムP450 (P450) との反応性と複数の肝毒性との間に有意な関連が認められることを見出している。そこで、毒性機序の理解及び毒性予測手法の開発、並びに毒性予測時の代謝経路の考察のサポートのために、ラット90日間反復投与毒性試験情報を有する120物質について、P450反応性をインビトロ試験により評価し、その値とラットインビボ毒性との関連性を解析した。

P450反応性の評価にはPromega社のP450-Gloアッセイシステムを利用した。酵素源としては市販の組換えP450酵素 (Corning) 又はヒト肝ミクロソーム (4個体プール) を使用した。また、被験物質はDMSOに溶解し、0.1、1、10 μ Mの3濃度での評価を行った。評価を行ったP450分子種は、ラット7分子種 (CYP1A1、CYP1A2、CYP2B1、CYP2C6、CYP2D1、CYP2E1、CYP3A2) 及びヒト9分子種 (CYP1A1、CYP1A2、CYP1B1、CYP2B6、CYP2C8、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6、CYP3A4) である。

図3-3に評価結果の概要を示した。ラットCYP2E1分子種を除き、10 μ Mでは非常に多くの物質がP450と反応することが明らかになった。ラットでは、CYP1A1との反応性が最も高く120物質中89物質 (74%) が反応した。また、CYP2B1、CYP2C6、CYP3A2でも73-80物質 (61-67%) で反応が認められた。ヒト分子種においても同様の傾向が認められ、CYP1A1で78物質 (66%)、CYP2C9で68物質 (57%)、CYP2C19で78物質 (73%)、CYP3A4で67物質 (56%) が反応した。P450の阻害様式には、基質同士の競合阻害、ヘム鉄への配位による非特異的阻害、代謝依存的な不活性化などの様式があるが、多くの場合は競合阻害であること、また農薬抄録等のラットの代謝マップではほとんどの物質で酸化的代謝が認められることから、今回評価に用いた物質はP450による酸化的代謝を受けると推察された。

次に、P450阻害活性と毒性発現との関連性を解析した。用いた120物質について、吉成らが独自でデータベース化したラット90日間反復投与毒性試験結果の全所見 (587所見) を抽出し、稀な所見 (10%以下の物質でしか認められない所見) を除いた36所見を選択した。また上記のP450阻害試験の結果、10 μ Mで20%以上の阻害が認められた物質を「陽性」、それ以外を「陰性」とし、36毒性所見の発現とP450阻害の関連性をカイ二乗検定により解析した (表3-1)。その結果、「 γ -GTP増加」で10分子種、「肝相対重量増加」及び「血中総タンパク質減少」で5分子種、「肝絶対重量増加」で4分子種、「血中グロブリン減少」及び「甲状腺絶対重量増加」で3分子種との間など、特定の組み合わせのP450反応性と毒性所見発現の間で有意な関連性が認められた。これらの結果は、物質による各毒性発現にP450による代謝活性化又はP450阻害による内因性物質の代謝阻害などが関与している可能性、P450によって認識される特定の分子構造が各毒性発現に関与している可能性などを示していると思われる。現時点では、各物質のラットインビボにおける毒性発現機序はほとんど明確になっていないため、統計学的関連性の意義は不明ではあるが、今後毒性発現機序の理解、毒性発現予測評価モデルの開発に有益な知見を提供するものと思われる。

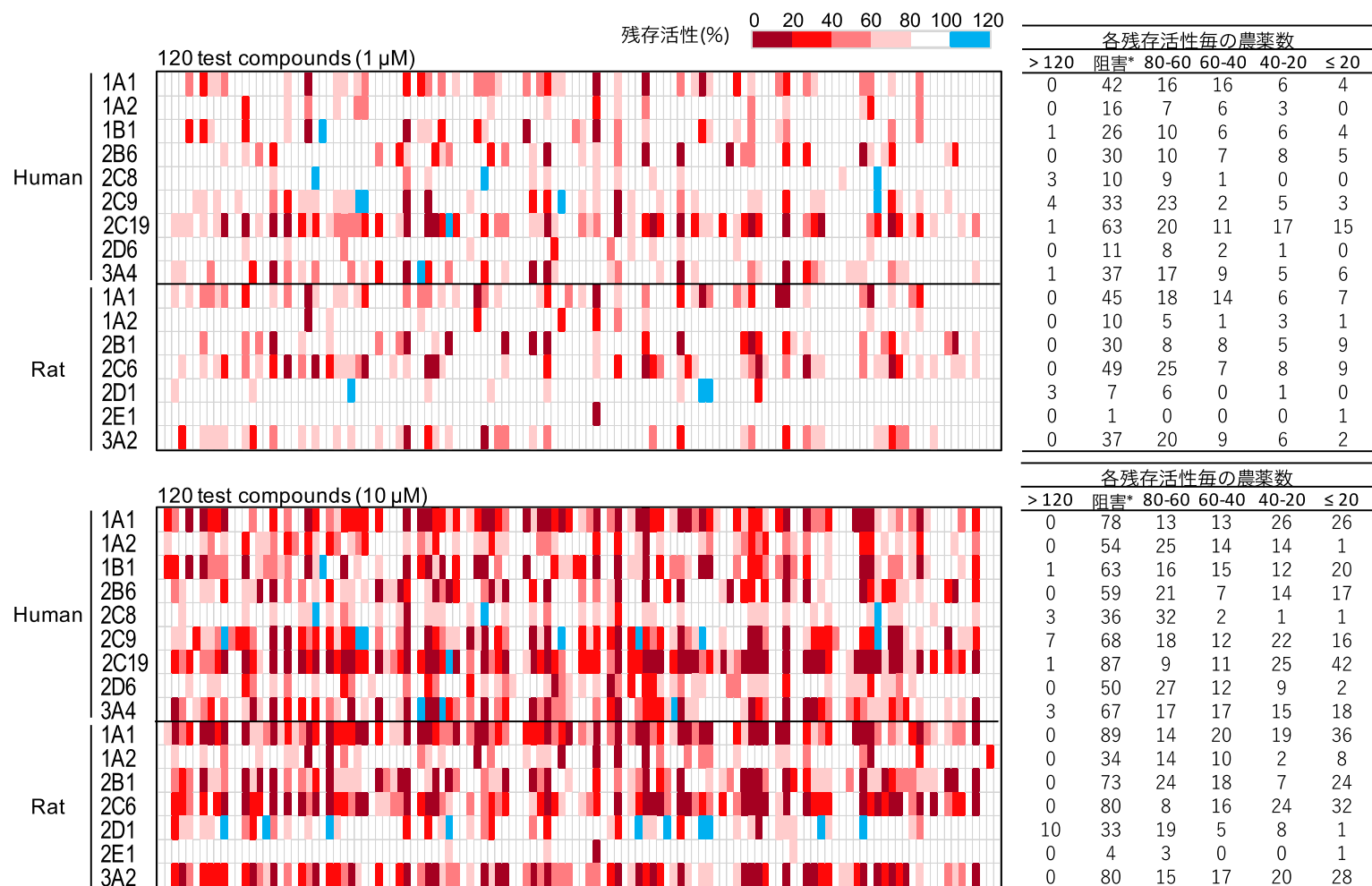


図3-3. 120物質によるP450阻害活性

1 μ M (上段) 又は10 μ M (下段) での阻害活性. *阻害: 20%以上阻害した化合物数

表3-1. P450阻害活性と90日間反復投与毒性との関連性

		肝				甲状腺		血液生化学				腎		脾臓		血液学				体重		外観/行動	
P450		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

（２）研究全体の成果、考察及び結論

本研究では、食品健康影響評価書のデータをHESSに組み込んでデータセットを拡充し、重篤な毒性の機序や種差の解明、毒性機序と化学構造に基づくカテゴリー作成、毒性学的懸念の閾値（TTC）の補助ツールとしての有用性の検証、インシリコ毒性予測手法の確立等を行い、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した。

食品健康影響評価書のデータを利用して、224物質（計674試験）のラット反復投与毒性試験のデータをHESSに搭載することができた。試験期間としては、13週間（90日間）が401試験、6か月以上1年未満が11試験、1年以上2年未満が22試験、2年が240試験であった。本研究で搭載したデータは主に農薬の試験データである。他方、これまでにHESSに搭載されていた物質は主に化審法の既存点検物質などの一般化学物質が多い。したがって、本研究によりHESSに搭載された化学物質のケミカルスペースが拡充され、より広い範囲の化学物質の食品健康影響評価をサポートすることが可能になったと考えられる。

本研究ではまた、これまで世界的にもデータベースがほとんど存在しない生殖発生毒性試験情報（一世代試験、二世代試験、発生試験等）の試験結果を抽出し、DIDPが5試験、DINPが4試験、DBPが29試験、DEHPが22試験、BBPが17試験、DNOPが2試験、ポリ乳酸が3試験、ポリエチレンナフタレートが9試験の計91試験の情報をMicrosoft Excel上で整理した。さらに、フタル酸エステル類6物質（DIDP：5試験、DINP：4試験、DBP：29試験、DEHP：22試験、BBP：17試験、DNOP：2試験）についてはFileMakerを用いたデータベースを構築した。このデータベースでは物質ごとに一世代試験、二世代試験及び発生試験に分けて各試験のワークシートと毒性試験情報源の文献をリンクさせ、統一された情報管理・検索システムが構築されている。したがって、生殖発生毒性試験の評価をサポートする非常に有用なツールになると思われる。また、本データベースでは複雑な生殖発生毒性試験の試験結果を体系的に整理しており、今後同様のデータベースを構築する際の基盤になることが期待される。

本研究では、データベースの構築、拡充に加えてそれらの有用性についても様々な観点から検討を行った。

構築した生殖発生毒性試験データベースを用いて、フタル酸エステルの毒性学的特徴を解析した。その結果、フタル酸エステル類の雌雄の生殖器系への影響は、側鎖のアルキル鎖の長さによって異なり、長鎖型（DIDP、DINP、DNOP）よりも短鎖型（DBP、DEHP、BBP）の方が低用量で毒性を示すこと、また、短鎖型の中でも物質ごとに毒性の強さが異なり、発生機序が異なる可能性があること、ラット肝臓への影響では側鎖の長さに関連した傾向は認められないこと、などが明らかになった。

また、毒性情報データベースの活用例として、反復投与毒性について、ラット及びイヌ間並びにラット及びマウス間の種差の比較解析を行った。その結果、ラットで認められた毒性所見については、同じ齧歯動物であるマウスで必ずしも良く認められる訳ではなく、所見の種類によってはイヌで高頻度に認められるものもあること、ラットとの一致率は試験期間や性別によって異なることなどが明らかになった。

次に、非発がんエンドポイントの閾値（Non-Cancer TTC）の検討を行った。HESSの毒性データ（732試験）をNOAELベースで整理し、5パーセントイルのTDI値を計算した結果、

CramerクラスⅠ、クラスⅡ及びクラスⅢでは、それぞれ800、348及び166 µg/人/日であり、1996年のMunroデータベースと比較すると、クラスⅢではMunroの値と同程度であったが、クラスⅠでは既報の値より低かった。これはHESSデータベースに含まれる化審法既存点検物質の特徴（比較的毒性が強いと考えられた物質が優先される）と考えられた。さらにクラスⅢの物質では、遺伝毒性物質のTTC値は非遺伝毒性物質のTTC値と比べ高いことが明らかになった。

次いで化学構造と毒性発現の関連性を解析した。その結果、ラット28日間試験における特定の物理化学的性状を有するナフタレン含有物質と血中ALTレベル上昇の関連性、90日間試験におけるピラゾール環と肝機能低下、シアノ基と脂質代謝異常、トリアゾール環と肝細胞傷害・壊死との関連性、2年間試験におけるピラゾール環と脂質代謝異常、トリアゾール環と脂肪化との関連性を見出すことができた。さらに、BBB透過に重要な物理化学的特徴並びに脳神経系の毒性発現への関与する生体高分子との反応メカニズムに基づいた脳神経毒性物質カテゴリーを構築できた。

最後に、薬物代謝の毒性発現への関与を検討するために、P450との反応性を評価し、それらとラットインビボ毒性との関連性を解析した。その結果、血中γ-GTP増加、肝相対重量増加・肝絶対重量増加、血中総タンパク質減少、血中グロブリン減少並びに甲状腺絶対重量増加などがいくつかのP450分子種の反応性と有意に関連することが明らかになり、薬物代謝のこれら毒性発現への寄与が示唆された。

以上、本研究では、食品健康影響評価書のデータを活用し、ラット毒性試験データベースであるHESSを拡充するとともに、収集した毒性試験情報を利用して様々な検討を行い、毒性試験情報の有用性、データベース構築の重要性を示すことができた。これら成果は、毒性試験データベースを活用した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に有益と考えられる。

Ⅲ 本研究を基に発表した論文等

- 1 本研究を基に発表した論文と掲載された雑誌名のリスト（※別添として別刷（投稿中のものは、受理証明書の写し）を提出すること。また、査読付きの場合は、雑誌名の冒頭に◎を付すこと。）
 - 1) Ambe, K., Ishihara, K., Ochibe, T., Ohya, K., Tamura, S., Inoue, K., Yoshida, M., Tohkin, M., *In silico* prediction of chemical-induced hepatocellular hypertrophy using molecular descriptors, ◎*Toxicol. Sci.*, **162**:667-675, 2018.
 - 2 本研究を基にした学会発表の実績
 - 1) Yamada, T., Honma, M., Hayahshi, M. Recent advances in Quantitative Structure Activity Relationship (QSAR) and read-across for chemical safety assessment, ICCA-LRI and NIHS Workshop, June 2016, Awaji, Japan.
 - 2) Yamada, T., Tanaka, Y., Hasegawa R., Sakuratani, Y., Yamada, J., Kamata, E., Ono, A., Yamazoe, Y., Mekenyan, O., Hayashi, M. Hirose, A. Development of a case study on the

read-across assessment of hepatotoxicity of allyl esters for OECD IATA Case Study Project in 2015, 52nd European Congress of the European Societies of Toxicology, September 2016, Seville.

- 3) 榊原由子、安部賀央里、石原佳奈、頭金正博、食器や食品の包装容器に由来する化学物質の毒性試験データベースの構築、第2回次世代を担う若手のためのレギュラトリーサイエンスフォーラム、2016年9月、東京.
- 4) Yamada, T., Hayashi, M., Hirose, A. Development of read-across for chemical safety assessment, Asian Congress 2016 on Alternatives and Animal Use in the Life Science, November 2016, Karatsu, Japan.
- 5) 山田隆志、福島隆、林真、我が国における化学物質のin silico評価の現状と活用推進のための方策、日本動物実験代替法学会第29回大会、2016年11月、福岡
- 6) 山田隆志、OECD IATAケーススタディプロジェクトの概要、日本化学工業協会化学品管理のためのQSAR/in silicoセミナー、2017年1月、東京.
- 7) 吉成浩一、インビトロ及びインシリコ手法による肝毒性の予測評価と毒性データベース、第44回日本毒性学会学術年会、2017年7月、横浜.
- 8) 安部賀央里、頭金正博、QSARアプローチによる機械学習法を用いた反復投与毒性予測手法の開発、第44回日本毒性学会学術年会、2017年7月、横浜.
- 9) 山田隆志、全身毒性の予測へ向けた毒性データベースー透明性・データの共有・国際動向ー、第44回日本毒性学会学術年会、2017年7月、横浜.
- 10) Yamada, T., Hirose, A. Honma M. Our recent experiences for development of read-across approach for chemical safety assessment, 10th World Congress of Alternatives and Animal Use in the Life Sciences, August 2017, Seattle, WA, USA.
- 11) 坂部彩、安部賀央里、頭金正博、食器や食品の包装容器に由来する化学物質間の生殖発生毒性の比較、第3回次世代を担う若手のためのレギュラトリーサイエンスフォーラム、2017年9月、東京.
- 12) Yamada, T., Hayahshi, M. Honma, M. Toxicity databases of chemical substances in Japan to improve in silico approaches for regulatory safety assessment. 53rd European Congress of the European Societies of Toxicology, September 2017, Bratislava, Slovak.
- 13) Yamada, T., Hirose, A. Yang, C. Rathman, J. Development of a new database of non-cancer toxicity endpoints of industrial chemicals for improving TTC approach. 53rd European Congress of the European Societies of Toxicology, September 2017, Bratislava, Slovak.
- 14) 落部達也、安部賀央里、頭金正博、In silico models for predicting repeated dose toxicity using machine learning、CBI学会2017年大会、2017年10月、東京.
- 15) Yamada, T. Toxicity databases of chemical substances in Japan to improve in silico approaches for regulatory safety assessment. 12th International Conference and 5th Asian Congress on Environmental Mutagens, (November 2017, Incheon, Korea).
- 16) 川野拓歩、渡邊美智子、佐々木崇光、隠岐仁美、清水佑記、竹下潤一、志津怜太、保坂卓臣、吉成浩一：Application of cytochrome P450 reactivity assessment to the prediction of liver toxicity of pesticides、第22回静岡健康・長寿学術フォーラム、2017年11月、静岡.

3 特許及び特許出願の数と概要

なし

4 その他（各種受賞、プレスリリース、開発ソフト・データベースの構築等）

- 1) 第2回次世代を担う若手のためのレギュラトリーサイエンスフォーラム 優秀発表
賞受賞 榊原由子、安部賀央里、石原佳奈、頭金正博、食器や食品の包装容器に由
来する化学物質の毒性試験データベースの構築、2016年9月、東京。

IV 研究開始時に申告した達成目標及び研究全体の自己評価

1 達成目標の自己評価

達成目標	評価結果	自己評価コメント
(1) 研究項目1：公開毒性試験成績のデータベース化 ・食品健康影響評価書を利用して、400化合物の反復投与毒性試験及び発がん性試験について、動物種、系統、性、投与量、全毒性所見、各所見の LOEL/NOAEL、CAS 等のデータを電子データ化し、反復投与毒性試験データについては HESS へ搭載する。	5	反復投与毒性試験情報について、達成目標を上回るデータを入力できた。さらに、器具・容器包装関連物質の生殖発生毒性試験情報のデータ収集も行い、一部はデータベース化した。以上より、非常に優れた研究成果を挙げたと考えた。
(2) 研究項目2：作成したデータベースのインシリコ毒性予測・評価への応用 ・代表的な毒性（肝毒性、血液毒性、腎毒性等）について、毒性発現機序情報の抽出やカテゴリーアプローチにおけるデータベースの有用性を明らかにする。 ・毒性試験データベースを利用したインシリコ毒性予測・安全性評価手法の確立に	5	肝毒性、神経毒性などの代表的なラット反復投与毒性のカテゴリー情報を抽出できた。機械学習を利用して、肝肥大を高精度で予測可能なモデルを構築できた。農薬等の食品健康影響評価書の情報を拡充することで、HESS データベースが TTC 手法に有用であることを示すことができた。データベースを利用して、フタル酸エステル類の毒性学的特徴を明らかにできた。以上より、非常に優れた研究成果を挙げたと考えた。

向けた戦略を提示する。 ・食品の器具・容器包装由来の化学物質の評価への応用を考えた TTC 手法の補助ツールとしての有用性を検証する。		
(3) 研究項目 3：毒性発現機序のインビボ・インビトロ検証試験 ・代表的な毒性（肝毒性など）について、過去の安全性評価において推定された毒性発現機序、また研究項目 2 で推察された機序を、インビボ・インビトロ試験等より検証する。	3	インビボ毒性を評価可能なインビトロ試験の確立が困難であったため、インシリコ手法による肝毒性予測結果をインビトロ試験により検証することができなかったが、代謝酵素を利用したインビトロ試験がインビボ毒性を予測評価する上で有用であることを明らかにできた。以上より、平均的な研究成果であると考えた。

注) 評価結果欄は「5」を最高点、「1」を最低点として5段階で自己採点すること。

2 研究全体の自己評価

項 目	評価結果	自己評価コメント
(1) 研究目標の達成度	4	研究項目 3 では、一部の目標を達成することができなかったが、それ以外の項目では、達成目標以上の成果を上げることができた。
(2) 研究成果の有用性	5	研究項目 1 における HESS のデータ拡充、研究項目 2 におけるデータベースの有効活用 of 検討における成果は、食品中化学物質の安全性評価におけるインシリコ手法の利用促進に直接的に結びつくものであり、非常に有用と考えられる。
総合コメント 食品中化学物質の安全性評価に重要なラット反復投与毒性試験結果のデータベースは、我が国では化審法対象物質を中心とした HESS しか存在しない。HESS プラットフォームは、OECD の QSAR ツールボックスとの互換性を有しており、国際調和を考える上でも非常に有用なデータベースである。本研究では食品健康影響評価書を利用して HESS のケミカルスペースの拡充を行い、そのデータが非常に有用であることを様々な方法論で示すことができた。本研究成果は、科学的意義の重要性に加えて、食品中化学物質の安全性評価において、実践的な観点からも非常に有用であると考えている。		

注) 評価結果欄は、「5」を最高点、「1」を最低点として5段階で記述すること。

この報告書は、食品安全委員会の委託研究事業の成果について取りまとめたものです。本報告書で述べられている見解及び結論は研究者個人のものであり、食品安全委員会としての見解を示すものではありません。全ての権利は、食品安全委員会に帰属します。

付録 HESSデータベース拡充のための食品健康影響評価書の物質と試験のリスト

Study_No.	Chem_No.	CAS_No.	Test Chemical	Administration period	Route	Species
8006	8001	26761-40-0	Diisodecyl phthalate (DIDP)	90 day	Feed	Rat
8007	8001	26761-40-0	Diisodecyl phthalate (DIDP)	3 month	Gavage	Rat
8010	8001	26761-40-0	Diisodecyl phthalate (DIDP)	2 year	Feed	Rat
8012	8002	68515-48-0	Diisononyl Phthalate (DINP)	13 week	Feed	Rat
8013	8002	68515-48-0	Diisononyl Phthalate (DINP)	13 week	Feed	Rat
8014	8002	68515-48-0	Diisononyl Phthalate (DINP)	13 week	Feed	Rat
8018	8002	68515-48-0	Diisononyl Phthalate (DINP)	2 year	Feed	Rat
8030	8003	84-74-2	Dibutyl phthalate(DBP)	13 week	Feed	Rat
8031	8003	84-74-2	Dibutyl phthalate(DBP)	3 month	Feed	Rat
8032	8003	84-74-2	Dibutyl phthalate(DBP)	3 month	Gavage	Rat
8036	8003	84-74-2	Dibutyl phthalate(DBP)	1 year	Feed	Rat
8037	8004	117-81-7	Bis(2-ethylhexyl) phthalate(DEHP)	13 week	Feed	Rat
8038	8004	117-81-7	Bis(2-ethylhexyl) phthalate(DEHP)	103 week	Feed	Rat
8040	8004	117-81-7	Bis(2-ethylhexyl) phthalate(DEHP)	104 week	Feed	Rat
8041	8004	117-81-7	Bis(2-ethylhexyl) phthalate(DEHP)	159 week	Feed	Rat
8042	8005	85-68-7	Butyl benzyl phthalate(BBP)	3 month	Gavage	Rat
8043	8005	85-68-7	Butyl benzyl phthalate(BBP)	3 month	Gavage	Rat
8044	8005	85-68-7	Butyl benzyl phthalate(BBP)	26 week	Gavage	Rat
8047	8005	85-68-7	Butyl benzyl phthalate(BBP)	103 week	Feed	Rat
8048	8005	85-68-7	Butyl benzyl phthalate(BBP)	2 year	Feed	Rat
8086	8016	542-75-6	1,3-dichloropropene	90 day	Gavage	Rat
8087	8016	542-75-6	1,3-dichloropropene	90 day	Gavage	Rat
8088	8016	542-75-6	1,3-dichloropropene	90 day	Gavage	Rat
8089	8016	542-75-6	1,3-dichloropropene	90 day	Feed	Rat
8091	8016	542-75-6	1,3-dichloropropene	2 year	Gavage	Rat
8092	8016	542-75-6	1,3-dichloropropene	2 year	Feed	Rat
8093	8016	542-75-6	1,3-dichloropropene	2 year	Gavage	Rat
8094	8016	542-75-6	1,3-dichloropropene	2 year	Inhalation	Rat
8096	8018	61-31-4	1-naphthaleneacetic acid, sodium salt	90 day	Feed	Rat
8097	8018	61-31-4	1-naphthaleneacetic acid, sodium salt	90 day	Feed	Rat
8098	8018	61-31-4	1-naphthaleneacetic acid, sodium salt	2 year	Feed	Rat
8099	8019	71751-41-2	abamectin	90 day	Gavage	Rat
8100	8019	71751-41-2	abamectin	2 year	Feed	Rat
8101	8020	30560-19-1	acephate	90 day	Feed	Rat
8102	8020	30560-19-1	acephate	90 day	Feed	Rat
8103	8020	30560-19-1	acephate	90 day	Feed	Rat
8104	8020	30560-19-1	acephate	90 day	Feed	Rat
8105	8020	30560-19-1	acephate	2 year	Feed	Rat
8106	8020	30560-19-1	acephate	2 year	Feed	Rat
8107	8021	57960-19-7	acequinocyl	90 day	Feed	Rat
8108	8021	57960-19-7	acequinocyl	2 year	Feed	Rat
8109	8022	135410-20-7	acetamiprid	90 day	Feed	Rat
8110	8022	135410-20-7	acetamiprid	90 day	Feed	Rat
8111	8022	135410-20-7	acetamiprid	2 year	Feed	Rat
8112	8023	34256-82-1	acetochlor	90 day	Feed	Rat
8113	8023	34256-82-1	acetochlor	90 day	Feed	Rat
8114	8023	34256-82-1	acetochlor	90 day	Feed	Rat
8115	8023	34256-82-1	acetochlor	2 year	Feed	Rat
8116	8023	34256-82-1	acetochlor	2 year	Feed	Rat
8117	8023	34256-82-1	acetochlor	2 year	Feed	Rat
8118	8024	62476-59-9	acifluorfen-sodium	90 day	Feed	Rat
8119	8024	62476-59-9	acifluorfen-sodium	2 year	Feed	Rat
8120	8024	62476-59-9	acifluorfen-sodium	2 year	Feed	Rat
8121	8025	15972-60-8	alachlor	2 year	Feed	Rat
8122	8025	15972-60-8	alachlor	2 year	Feed	Rat
8123	8026	116-06-3	aldicarb	90 day	Feed	Rat

Study_No.	Chem_No.	CAS_No.	Test Chemical	Administration period	Route	Species
8124	8026	116-06-3	aldicarb	90 day	Gavage	Rat
8125	8026	116-06-3	aldicarb	2 year	Feed	Rat
8126	8026	116-06-3	aldicarb	2 year	Feed	Rat
8127	8026	116-06-3	aldicarb	2 year	Feed	Rat
8128	8027	1646-88-4	aldoxycarb	90 day	Feed	Rat
8129	8027	1646-88-4	aldoxycarb	6 Month	Feed	Rat
8130	8027	1646-88-4	aldoxycarb	2 year	Feed	Rat
8131	8028	348635-87-0	amisulbrom	90 day	Feed	Rat
8132	8028	348635-87-0	amisulbrom	90 day	Feed	Rat
8133	8028	348635-87-0	amisulbrom	2 year	Feed	Rat
8136	8030	11141-17-6 95507-03-2	azadirachtin	90 day	Feed	Rat
8137	8030	11141-17-6 95507-03-2	azadirachtin	90 day	Feed	Rat
8138	8031	120162-55-2	azimsulfuron	90 day	Feed	Rat
8139	8031	120162-55-2	azimsulfuron	2 year	Feed	Rat
8140	8032	41083-11-8	azocyclotin	90 day	Feed	Rat
8141	8032	41083-11-8	azocyclotin	90 day	Feed	Rat
8142	8032	41083-11-8	azocyclotin	2 year	Feed	Rat
8143-1	8032	13121-70-5	cyhexatin	90 day	Feed	Rat
8143-2	8032	13121-70-5	cyhexatin	90 day	Feed	Rat
8143-3	8032	13121-70-5	cyhexatin	2 year	Feed	Rat
8143-4	8032	13121-70-5	cyhexatin	2 year	Feed	Rat
8144	8033	131860-33-8	azoxystrobin	90 day	Feed	Rat
8145	8033	131860-33-8	azoxystrobin	90 day	Feed	Rat
8146	8033	131860-33-8	azoxystrobin	2 year	Feed	Rat
8147	8034	1861-40-1	Benfluralin	90 day	Feed	Rat
8148	8034	1861-40-1	Benfluralin	2 year	Feed	Rat
8149	8035	68505-69-1	benfuresate	90 day	Feed	Rat
8150	8035	68505-69-1	benfuresate	2 year	Feed	Rat
8151	8036	98730-04-2	benoxacor	90 day	Gavage	Rat
8152	8036	98730-04-2	benoxacor	2 year	Feed	Rat
8153	8037	177406-68-7	benthiavalicarb-isopropyl	90 day	Feed	Rat
8154	8037	177406-68-7	benthiavalicarb-isopropyl	2 year	Feed	Rat
8155	8038	156963-66-5	benzobicyclon	90 day	Feed	Rat
8156	8038	156963-66-5	benzobicyclon	2 year	Feed	Rat
8157	8039	1214-39-7	benzyladenine	90 day	Feed	Rat
8158	8039	1214-39-7	benzyladenine	90 day	Gavage	Rat
8159	8039	1214-39-7	benzyladenine	2 year	Feed	Rat
8160	8040	149877-41-8	bifenazate	90 day	Feed	Rat
8161	8040	149877-41-8	bifenazate	2 year	Feed	Rat
8162	8041	581809-46-3	bixafen	90 day	Feed	Rat
8163	8041	581809-46-3	bixafen	2 year	Feed	Rat
8164	8042	188425-85-6	boscalid	90 day	Feed	Rat
8165	8042	188425-85-6	boscalid	90 day	Feed	Rat
8166	8042	188425-85-6	boscalid	2 year	Feed	Rat
8167	8043	74712-19-9	bromobutide	90 day	Feed	Rat
8168	8043	74712-19-9	bromobutide	2 year	Feed	Rat
8169	8044	69327-76-0	buprofezin	90 day	Feed	Rat
8170	8044	69327-76-0	buprofezin	90 day	Feed	Rat
8171	8044	69327-76-0	buprofezin	2 year	Feed	Rat
8172	8045	23184-66-9	butachlor	90 day	Feed	Rat
8173-1	8045	23184-66-9	butachlor	2 year	Feed	Rat
8173-2	8045	23184-66-9	butachlor	2 year	Feed	Rat
8173-3	8045	23184-66-9	butachlor	2 year	Feed	Rat
8174	8046	36335-67-8	butamifos	90 day	Feed	Rat
8175	8046	36335-67-8	butamifos	2 year	Feed	Rat
8176	8046	36335-67-8	butamifos	2 year	Feed	Rat
8177	8047	95465-99-9	cadusafos	90 day	Feed	Rat

Study_No.	Chem_No.	CAS_No.	Test Chemical	Administration period	Route	Species
8178	8047	95465-99-9	cadusafos	90 day	Feed	Rat
8179	8047	95465-99-9	cadusafos	2 year	Feed	Rat
8180	8048	125306-83-4	cafenstrole	90 day	Feed	Rat
8181	8048	125306-83-4	cafenstrole	90 day	Feed	Rat
8182	8048	125306-83-4	cafenstrole	2 year	Feed	Rat
8183	8049	104030-54-8	carpropamid	90 day	Feed	Rat
8184	8049	104030-54-8	carpropamid	90 day	Feed	Rat
8185	8049	104030-54-8	carpropamid	2 year	Feed	Rat
8186	8050	122453-73-0	chlorfenapyr	90 day	Feed	Rat
8187	8050	122453-73-0	chlorfenapyr	1 year	Feed	Rat
8188	8050	122453-73-0	chlorfenapyr	2 year	Feed	Rat
8189	8051	2921-88-2	chlorpyrifos	90 day	Feed	Rat
8190	8051	2921-88-2	chlorpyrifos	90 day	Feed	Rat
8191	8051	2921-88-2	chlorpyrifos	90 day	Feed	Rat
8192	8051	2921-88-2	chlorpyrifos	6 month	Feed	Rat
8193	8051	2921-88-2	chlorpyrifos	2 year	Feed	Rat
8194	8051	2921-88-2	chlorpyrifos	2 year	Feed	Rat
8195	8052	143807-66-3	chromafenozide	90 day	Feed	Rat
8196	8052	143807-66-3	chromafenozide	2 year	Feed	Rat
8197	8053	84496-56-0	clomeprop	90 day	Feed	Rat
8198	8053	84496-56-0	clomeprop	2 year	Feed	Rat
8199	8054	210880-92-5	clothianidin	90 day	Feed	Rat
8200	8054	210880-92-5	clothianidin	90 day	Feed	Rat
8201	8054	210880-92-5	clothianidin	2 year	Feed	Rat
8202	8055	99485-76-4	cumyluron	90 day	Feed	Rat
8203	8055	99485-76-4	cumyluron	2 year	Feed	Rat
8204	8056	736994-63-1	cyantraniliprole	90 day	Feed	Rat
8205	8056	736994-63-1	cyantraniliprole	90 day	Feed	Rat
8206	8056	736994-63-1	cyantraniliprole	2 year	Feed	Rat
8207	8057	120116-88-3	cyazofamid	90 day	Feed	Rat
8208	8057	120116-88-3	cyazofamid	2 year	Feed	Rat
8209	8058	113136-77-9	cyclanilide	90 day	Feed	Rat
8210	8058	113136-77-9	cyclanilide	90 day	Feed	Rat
8211	8058	113136-77-9	cyclanilide	23 month	Feed	Rat
8212	8059	560121-52-0	cyenopyrafen	90 day	Feed	Rat
8213	8059	560121-52-0	cyenopyrafen	2 year	Feed	Rat
8214	8060	18409-60-3	cyflufenamid	90 day	Feed	Rat
8215	8060	18409-60-3	cyflufenamid	90 day	Feed	Rat
8216	8060	18409-60-3	cyflufenamid	2 year	Feed	Rat
8217	8061	400882-07-7	cyflumetofen	90 day	Feed	Rat
8218	8061	400882-07-7	cyflumetofen	1 year	Feed	Rat
8219	8062	121552-61-2	cyprodinil	90 day	Feed	Rat
8220	8062	121552-61-2	cyprodinil	90 day	Feed	Rat
8221	8062	121552-61-2	cyprodinil	2 year	Feed	Rat
8222	8063	66215-27-8	cyromazine	90 day	Feed	Rat
8223	8063	66215-27-8	cyromazine	2 year	Feed	Rat
8224	8064	412928-75-7	daimuron	90 day	Feed	Rat
8225	8064	412928-75-7	daimuron	90 day	Feed	Rat
8226	8064	412928-75-7	daimuron	2 year	Feed	Rat
8227	8065	333-41-5	diazinon	90 day	Feed	Rat
8228	8065	333-41-5	diazinon	90 day	Feed	Rat
8229	8065	333-41-5	diazinon	90 day	Feed	Rat
8230	8065	333-41-5	diazinon	90 day	Feed	Rat
8231	8065	333-41-5	diazinon	98 week	Feed	Rat
8232	8065	333-41-5	diazinon	2 year	Feed	Rat
8233	8066	1918-00-9	dicamba	90 day	Feed	Rat
8234	8066	1918-00-9	dicamba	90 day	Feed	Rat

Study_No.	Chem_No.	CAS_No.	Test Chemical	Administration period	Route	Species
8235	8066	1918-00-9	dicamba	90 day	Feed	Rat
8236	8066	1918-00-9	dicamba	90 day	Feed	Rat
8237	8066	1918-00-9	dicamba	2 year	Feed	Rat
8238	8067	1194-65-6	dichlobenil	90 day	Feed	Rat
8240	8067	1194-65-6	dichlobenil	2 year	Feed	Rat
8241	8068	139920-32-4	diclocymet	90 day	Feed	Rat
8242	8068	139920-32-4	diclocymet	2 year	Feed	Rat
8243	8069	145701-21-9	diclosulam	90 day	Feed	Rat
8244	8069	145701-21-9	diclosulam	2 year	Feed	Rat
8245	8070	119446-68-3	Difenoconazole	90 day	Feed	Rat
8246	8070	119446-68-3	Difenoconazole	90 day	Feed	Rat
8247	8070	119446-68-3	Difenoconazole	90 day	Feed	Rat
8248	8070	119446-68-3	Difenoconazole	2 year	Feed	Rat
8249	8071	83164-33-4	diflufenican	90 day	Feed	Rat
8250	8071	83164-33-4	diflufenican	90 day	Feed	Rat
8251	8071	83164-33-4	diflufenican	90 day	Feed	Rat
8252	8071	83164-33-4	diflufenican	2 year	Feed	Rat
8253	8072	22936-75-0	dimethametryn	90 day	Feed	Rat
8254	8072	22936-75-0	dimethametryn	2 year	Feed	Rat
8255	8073	163515-14-8	dimethenamid	90 day	Feed	Rat
8256	8073	163515-14-8	dimethenamid	90 day	Feed	Rat
8257	8073	163515-14-8	dimethenamid	2 year	Feed	Rat
8258	8074	165252-70-0	dinotefuran	90 day	Feed	Rat
8259	8074	165252-70-0	dinotefuran	90 day	Feed	Rat
8260	8074	165252-70-0	dinotefuran	2 year	Feed	Rat
8261	8075	3347-22-6	dithianon	90 day	Feed	Rat
8262	8075	3347-22-6	dithianon	2 year	Feed	Rat
8263	8076	97886-45-8	dithiopyr	90 day	Feed	Rat
8264	8076	97886-45-8	dithiopyr	2 year	Feed	Rat
8265	8077	2104-64-5	EPN	90 day	Feed	Rat
8267	8077	2104-64-5	EPN	90 day	Feed	Rat
8268	8077	2104-64-5	EPN	6 month	Feed	Rat
8269	8077	2104-64-5	EPN	2 year	Feed	Rat
8270	8078	133855-98-8	epoxiconazole	90 day	Feed	Rat
8271	8078	133855-98-8	epoxiconazole	90 day	Feed	Rat
8272	8078	133855-98-8	epoxiconazole	2 year	Feed	Rat
8273	8079	85785-20-2	esprocarb	90 day	Feed	Rat
8274	8079	85785-20-2	esprocarb	90 day	Feed	Rat
8275	8079	85785-20-2	esprocarb	2 year	Feed	Rat
8276	8080	162650-77-3	ethaboxam	90 day	Feed	Rat
8277	8080	162650-77-3	ethaboxam	90 day	Feed	Rat
8278	8080	162650-77-3	ethaboxam	2 year	Feed	Rat
8279	8081	181587-01-9	ethiprole	90 day	Feed	Rat
8280	8081	181587-01-9	ethiprole	90 day	Feed	Rat
8281	8081	181587-01-9	ethiprole	2 year	Feed	Rat
8282	8082	26225-79-6	Ethofumesate	90 day	Feed	Rat
8283	8082	26225-79-6	Ethofumesate	90 day	Feed	Rat
8284	8082	26225-79-6	Ethofumesate	1 year	Feed	Rat
8285	8082	26225-79-6	Ethofumesate	2 year	Feed	Rat
8286	8082	26225-79-6	Ethofumesate	2 year	Feed	Rat
8287	8083	13194-48-4	ethoprophos	90 day	Feed	Rat
8288	8083	13194-48-4	ethoprophos	90 day	Feed	Rat
8289	8083	13194-48-4	ethoprophos	2 year	Feed	Rat
8290	8083	13194-48-4	ethoprophos	2 year	Feed	Rat
8292	8084	126801-58-9	ethoxysulfuron	90 day	Feed	Rat
8293	8084	126801-58-9	ethoxysulfuron	2 year	Feed	Rat
8294	8085	27512-72-7	ethychlozate	90 day	Feed	Rat

Study_No.	Chem_No.	CAS_No.	Test Chemical	Administration period	Route	Species
8295	8085	27512-72-7	ethychlozate	2 year	Feed	Rat
8296	8086	79540-50-4	etobenzanid	90 day	Feed	Rat
8297	8086	79540-50-4	etobenzanid	2 year	Feed	Rat
8298	8087	80844-07-1	etofenprox	90 day	Feed	Rat
8299	8087	80844-07-1	etofenprox	90 day	Feed	Rat
8300	8087	80844-07-1	etofenprox	90 day	Feed	Rat
8301	8087	80844-07-1	etofenprox	90 day	Inhalation	Rat
8302	8087	80844-07-1	etofenprox	2 year	Feed	Rat
8303	8088	153233-91-1	etoxazole	90 day	Feed	Rat
8304	8088	153233-91-1	etoxazole	90 day	Feed	Rat
8305	8088	153233-91-1	etoxazole	2 year	Feed	Rat
8306	8088	153233-91-1	etoxazole	2 year	Feed	Rat
8307	8089	131807-57-3	Famoxadone	90 day	Feed	Rat
8308	8089	131807-57-3	Famoxadone	90 day	Feed	Rat
8309	8089	131807-57-3	Famoxadone	2 year	Feed	Rat
8310	8090	161326-34-7	fenamidone	90 day	Feed	Rat
8311	8090	161326-34-7	fenamidone	90 day	Feed	Rat
8312	8090	161326-34-7	fenamidone	90 day	Feed	Rat
8313	8090	161326-34-7	fenamidone	2 year	Feed	Rat
8314	8091	11961-00-6	fenbuconazole	90 day	Feed	Rat
8315	8091	11961-00-6	fenbuconazole	2 year	Feed	Rat
8316	8092	126833-17-8	fenhexamid	90 day	Feed	Rat
8317	8092	126833-17-8	fenhexamid	90 day	Feed	Rat
8318	8092	126833-17-8	fenhexamid	2 year	Feed	Rat
8319	8093	122-14-5	fenitrothion	90 day	Feed	Rat
8320	8093	122-14-5	fenitrothion	90 day	Feed	Rat
8321	8093	122-14-5	fenitrothion	2 year	Feed	Rat
8322	8094	3766-81-2	fenobucarb	90 day	Feed	Rat
8323	8094	3766-81-2	fenobucarb	90 day	Feed	Rat
8324	8094	3766-81-2	fenobucarb	2 year	Feed	Rat
8325	8095	115852-48-7	fenoxanil	90 day	Feed	Rat
8326	8095	115852-48-7	fenoxanil	2 year	Feed	Rat
8327	8096	473798-59-3	fenpyrazamine	90 day	Feed	Rat
8328	8096	473798-59-3	fenpyrazamine	90 day	Feed	Rat
8329	8096	473798-59-3	fenpyrazamine	2 year	Feed	Rat
8330	8097	111812-58-9	fenpyroximate	90 day	Feed	Rat
8331	8097	111812-58-9	fenpyroximate	2 year	Feed	Rat
8332	8098	55-38-9	fenthion	90 day	Feed	Rat
8333	8098	55-38-9	fenthion	16 week	Feed	Rat
8334	8098	55-38-9	fenthion	90 day	Feed	Rat
8335-1	8098	55-38-9	fenthion	2 year	Feed	Rat
8335-2	8098	55-38-9	fenthion	2 year	Feed	Rat
8336	8099	158237-07-1	fentrazamide	90 day	Feed	Rat
8337	8099	158237-07-1	fentrazamide	90 day	Feed	Rat
8338	8099	158237-07-1	fentrazamide	2 year	Feed	Rat
8339	8100	51630-58-1	fenvalerate	90 day	Feed	Rat
8340	8100	51630-58-1	fenvalerate	2 year	Feed	Rat
8341	8101	89269-64-7	ferimzone	90 day	Feed	Rat
8342	8101	89269-64-7	ferimzone	2 year	Feed	Rat
8343	8102	120068-37-3	fipronil	90 day	Feed	Rat
8344	8102	120068-37-3	fipronil	90 day	Feed	Rat
8345	8102	120068-37-3	fipronil	2 year	Feed	Rat
8346	8103	158062-67-0	flonicamid	90 day	Feed	Rat
8347	8103	158062-67-0	flonicamid	90 day	Feed	Rat
8348	8103	158062-67-0	flonicamid	2 year	Feed	Rat
8349	8104	178813-81-5	fluacrypyrim	90 day	Feed	Rat
8350	8104	178813-81-5	fluacrypyrim	2 year	Feed	Rat

Study_No.	Chem_No.	CAS_No.	Test Chemical	Administration period	Route	Species
8351	8105	79622-59-6	fluazinam	90 day	Feed	Rat
8352	8105	79622-59-6	fluazinam	90 day	Feed	Rat
8353	8105	79622-59-6	fluazinam	90 day	Feed	Rat
8354	8105	79622-59-6	fluazinam	2 year	Feed	Rat
8355	8105	79622-59-6	fluazinam	2 year	Feed	Rat
8356	8106	272451-65-7	flubendiamide	90 day	Feed	Rat
8357	8106	272451-65-7	flubendiamide	1 year	Feed	Rat
8358	8107	412928-75-7	flucetosulfuron	90 day	Feed	Rat
8359	8107	412928-75-7	flucetosulfuron	2 year	Feed	Rat
8360	8108	131341-86-1	fludioxonil	90 day	Feed	Rat
8361	8108	131341-86-1	fludioxonil	2 year	Feed	Rat
8362	8109	142459-58-3	flufenacet	90 day	Feed	Rat
8363	8109	142459-58-3	flufenacet	90 day	Feed	Rat
8364	8109	142459-58-3	flufenacet	2 year	Feed	Rat
8365	8110	101463-69-8	flufenoxuron	90 day	Feed	Rat
8366	8110	101463-69-8	flufenoxuron	2 year	Feed	Rat
8367	8111	98967-40-9	flumetsulam	90 day	Feed	Rat
8368	8111	98967-40-9	flumetsulam	2 year	Feed	Rat
8369	8112	103361-09-7	flumioxazin	90 day	Feed	Rat
8370	8112	103361-09-7	flumioxazin	90 day	Feed	Rat
8371	8112	103361-09-7	flumioxazin	90 day	Feed	Rat
8372	8112	103361-09-7	flumioxazin	2 year	Feed	Rat
8373	8113	239110-15-7	fluopicolide	90 day	Feed	Rat
8374	8113	239110-15-7	fluopicolide	90 day	Feed	Rat
8375	8113	239110-15-7	fluopicolide	2 year	Feed	Rat
8376	8114	658066-35-4	fluopyram	90 day	Feed	Rat
8377	8114	658066-35-4	fluopyram	90 day	Feed	Rat
8378	8114	658066-35-4	fluopyram	2 year	Feed	Rat
8379	8115	41205-21-4	fluoroimide	90 day	Feed	Rat
8380	8115	41205-21-4	fluoroimide	90 day	Feed	Rat
8381	8115	41205-21-4	fluoroimide	2 year	Feed	Rat
8382	8116	85509-19-9	flusilazole	90 day	Feed	Rat
8383	8116	85509-19-9	flusilazole	91 day	Feed	Rat
8384	8116	85509-19-9	flusilazole	2 year	Feed	Rat
8385	8116	85509-19-9	flusilazole	2 year	Feed	Rat
8386	8117	958647-10-4	flutianil	90 day	Feed	Rat
8387	8117	958647-10-4	flutianil	2 year	Feed	Rat
8388	8118	76674-21-0	flutriafol	90 day	Feed	Rat
8389	8118	76674-21-0	flutriafol	90 day	Feed	Rat
8390	8118	76674-21-0	flutriafol	2 year	Feed	Rat
8391	8119	907204-31-3	Fluxapyroxad	90 day	Feed	Rat
8392	8119	907204-31-3	Fluxapyroxad	90 day	Feed	Rat
8393	8119	907204-31-3	Fluxapyroxad	2 year	Feed	Rat
8394	8120	123572-88-3	furametpyr	90 day	Feed	Rat
8395	8120	123572-88-3	furametpyr	2 year	Feed	Rat
8396	8121	77182-82-2	glufosinate-ammonium	90 day	Feed	Rat
8397	8121	77182-82-2	glufosinate-ammonium	90 day	Feed	Rat
8398	8121	77182-82-2	glufosinate-ammonium	2.5 year	Feed	Rat
8399	8122	100784-20-1	halosulfuron-methyl	90 day	Feed	Rat
8400	8122	100784-20-1	halosulfuron-methyl	90 day	Feed	Rat
8401	8122	100784-20-1	halosulfuron-methyl	90 day	Feed	Rat
8402	8122	100784-20-1	halosulfuron-methyl	2 year	Feed	Rat
8403	8123	81334-34-1	imazapyr	90 day	Feed	Rat
8404	8123	81334-34-1	imazapyr	90 day	Feed	Rat
8405	8123	81334-34-1	imazapyr	2 year	Feed	Rat
8406	8124	86598-92-7	imibenconazole	90 day	Feed	Rat
8407	8124	86598-92-7	imibenconazole	90 day	Feed	Rat

Study_No.	Chem_No.	CAS_No.	Test Chemical	Administration period	Route	Species
8408	8124	86598-92-7	imibenconazole	2 year	Feed	Rat
8409	8125	140163-89-9	imicyafos	90 day	Feed	Rat
8410	8125	140163-89-9	imicyafos	90 day	Feed	Rat
8411	8125	140163-89-9	imicyafos	2 year	Feed	Rat
8412	8126	138261-41-3	imidacloprid	90 day	Feed	Rat
8413	8126	138261-41-3	imidacloprid	90 day	Feed	Rat
8414	8126	138261-41-3	imidacloprid	2 year	Feed	Rat
8415	8127	133220-30-1	indanofan	90 day	Feed	Rat
8416	8127	133220-30-1	indanofan	90 day	Feed	Rat
8417	8127	133220-30-1	indanofan	2 year	Feed	Rat
8418	8128	173584-44-6	indoxacarb	90 day	Feed	Rat
8419	8128	173584-44-6	indoxacarb	90 day	Feed	Rat
8420	8128	173584-44-6	indoxacarb	2 year	Feed	Rat
8421	8129	212201-70-2	ipfencarbazone	90 day	Feed	Rat
8422	8129	212201-70-2	ipfencarbazone	1 year	Feed	Rat
8423	8130	26087-47-8	iprobenfos	90 day	Feed	Rat
8424	8130	26087-47-8	iprobenfos	90 day	Feed	Rat
8425	8130	26087-47-8	iprobenfos	90 day	Feed	Rat
8426	8130	26087-47-8	iprobenfos	2 year	Feed	Rat
8427	8131	50512-35-1	isoprothiolane	90 day	Feed	Rat
8428	8131	50512-35-1	isoprothiolane	2 year	Feed	Rat
8429	8132	881685-58-1	isopyrazam	90 day	Feed	Rat
8430	8132	881685-58-1	isopyrazam	90 day	Feed	Rat
8431	8132	881685-58-1	isopyrazam	90 day	Feed	Rat
8432	8132	881685-58-1	isopyrazam	2 year	Feed	Rat
8433	8133	224049-04-1	isotianil	90 day	Feed	Rat
8434	8133	224049-04-1	isotianil	1 year	Feed	Rat
8435	8134	141112-29-0	isoxaflutole	90 day	Feed	Rat
8436	8134	141112-29-0	isoxaflutole	90 day	Feed	Rat
8437	8134	141112-29-0	isoxaflutole	2 year	Feed	Rat
8438	8135	19408-46-9	kasugamycin	90 day	Feed	Rat
8439	8135	19408-46-9	kasugamycin	90 day	Feed	Rat
8440	8135	19408-46-9	kasugamycin	2 year	Feed	Rat
8440-2	8135	19408-46-9	kasugamycin	2 year	Feed	Rat
8441	8136	143390-89-0	kresoxim-methyl	90 day	Feed	Rat
8442	8136	143390-89-0	kresoxim-methyl	90 day	Feed	Rat
8443	8136	143390-89-0	kresoxim-methyl	2 year	Feed	Rat
8444	8137	171249-10-8 171249-05-1	lepimectin	90 day	Feed	Rat
8445	8137	171249-10-8 171249-05-1	lepimectin	90 day	Feed	Rat
8446	8137	171249-10-8 171249-05-1	lepimectin	1 year	Feed	Rat
8447	8138	58-89-9	lindane	90 day	Feed	Rat
8447-2	8138	58-89-9	lindane	28 day	Feed	Rat
8448	8138	58-89-9	lindane	90 day	Feed	Rat
8451	8138	58-89-9	lindane	2 year	Feed	Rat
8452	8139	103055-07-8	lufenuron	90 day	Feed	Rat
8453	8139	103055-07-8	lufenuron	4 month	Feed	Rat
8454	8139	103055-07-8	lufenuron	2 year	Feed	Rat
8455	8140	121-75-5	malathion	90 day	Feed	Rat
8456	8140	121-75-5	malathion	13 week	Feed	Rat
8457	8140	121-75-5	malathion	2 year	Feed	Rat
8458	8140	121-75-5	malathion	2 year	Feed	Rat
8459	8141	374726-62-2	mandipropamid	90 day	Feed	Rat
8560	8141	374726-62-2	mandipropamid	90 day	Feed	Rat
8461	8141	374726-62-2	mandipropamid	90 day	Feed	Rat
8462	8142	94-74-6	MCPA	90 day	Feed	Rat
8463	8142	94-74-6	MCPA	90 day	Feed	Rat

Study_No.	Chem_No.	CAS_No.	Test Chemical	Administration period	Route	Species
8464	8142	94-74-6	MCPA	90 day	Feed	Rat
8465	8142	94-74-6	MCPA①	2 year	Feed	Rat
8466	8142	94-74-6	MCPA②	2 year	Feed	Rat
8467	8143	73250-68-7	mefenacet	90 day	Feed	Rat
8468	8143	73250-68-7	mefenacet	90 day	Feed	Rat
8469	8143	73250-68-7	mefenacet	6 month	Feed	Rat
8470	8143	73250-68-7	mefenacet	2 year	Feed	Rat
8471	8144	135590-91-9	mefenpyr-diethyl	90 day	Feed	Rat
8472	8144	135590-91-9	mefenpyr-diethyl	2 year	Feed	Rat
8473	8145	104206-82-8	mesotrione	90 day	Feed	Rat
8474	8145	104206-82-8	mesotrione	90 day	Feed	Rat
8475	8145	104206-82-8	mesotrione	90 day	Feed	Rat
8476	8145	104206-82-8	mesotrione	2 year	Feed	Rat
8477	8146	139968-49-3	metaflumizone	90 day	Feed	Rat
8478	8146	139968-49-3	metaflumizone	90 day	Feed	Rat
8479	8146	139968-49-3	metaflumizone	2 year	Feed	Rat
8480	8147	57837-19-1	metalaxyl	90 day	Feed	Rat
8481	8147	57837-19-1	metalaxyl	90 day	Feed	Rat
8482	8147	57837-19-1	metalaxyl	90 day	Feed	Rat
8483	8147	57837-19-1	metalaxyl	90 day	Feed	Rat
8484	8147	57837-19-1	metalaxyl	90 day	Feed	Rat
8485	8147	57837-19-1	metalaxyl	2 year	Feed	Rat
8486	8148	108-62-3	metaldehyde	90 day	Feed	Rat
8487	8148	108-62-3	metaldehyde	90 day	Feed	Rat
8488	8148	108-62-3	metaldehyde	2 year	Feed	Rat
8489	8149	868680-84-6	metazosulfuron	90 day	Feed	Rat
8490	8149	868680-84-6	metazosulfuron	90 day	Feed	Rat
8491	8149	868680-84-6	metazosulfuron	1 year	Feed	Rat
8492	8150	125116-23-6	metconazole	90 day	Feed	Rat
8493	8150	125116-23-6	metconazole	2 year	Feed	Rat
8494	8151	161050-58-4	methoxyfenozide	90 day	Feed	Rat
8495	8151	161050-58-4	methoxyfenozide	90 day	Feed	Rat
8496	8151	161050-58-4	methoxyfenozide	2 year	Feed	Rat
8497	8152	74-88-4	methyl iodide	90 day	PO	Rat
8500	8153	51218-45-2 87392-14-8 178961-20-1	metolachlor	90 day	Feed	Rat
8501	8153	51218-45-2 87392-14-8 178961-20-1	metolachlor	90 day	Feed	Rat
8502	8153	51218-45-2 87392-14-8 178961-20-1	metolachlor	2 year	Feed	Rat
8503	8154	133408-50-1	metominostrobin	90 day	Feed	Rat
8504	8154	133408-50-1	metominostrobin	2 year	Feed	Rat
8505	8155	7786-34-7	mevinphos	90 day	Feed	Rat
8506	8155	7786-34-7	mevinphos	91 day	Feed	Rat
8507	8155	7786-34-7	mevinphos	2 year	Feed	Rat
8508	8156	51596-10-2 51596-11-3	milbemectin	90 day	Feed	Rat
8509	8156	51596-10-2 51596-11-3	milbemectin	90 day	Feed	Rat
8510	8156	51596-10-2 51596-11-3	milbemectin	2 year	Feed	Rat
8511	8157	2212-67-1	molinate	90 day	Feed	Rat
8512	8157	2212-67-1	molinate	90 day	Feed	Rat
8513	8157	2212-67-1	molinate	90 day	Feed	Rat
8514	8157	2212-67-1	molinate	90 day	Feed	Rat
8515	8157	2212-67-1	molinate	2 year	Feed	Rat
8516	8158	88671-89-0	myclobutanil	90 day	Feed	Rat
8517	8158	88671-89-0	myclobutanil	90 day	Feed	Rat
8518	8158	88671-89-0	myclobutanil	2 year	Feed	Rat
8519	8159	27314-13-2	norflurazon	9 month	Feed	Rat

Study_No.	Chem_No.	CAS_No.	Test Chemical	Administration period	Route	Species
8520	8159	27314-13-2	norflurazon	2 year	Feed	Rat
8521	8160	116714-46-6	novaluron	90 day	Feed	Rat
8522	8160	116714-46-6	novaluron	90 day	Feed	Rat
8523	8160	116714-46-6	novaluron	2 year	Feed	Rat
8524	8161	248583-16-1	orysastrobin	90 day	Feed	Rat
8525	8161	248583-16-1	orysastrobin	90 day	Feed	Rat
8526	8161	248583-16-1	orysastrobin	2 year	Feed	Rat
8527	8162	39807-15-3	oxadiargyl	90 day	Feed	Rat
8528	8162	39807-15-3	oxadiargyl	90 day	Feed	Rat
8529	8162	39807-15-3	oxadiargyl	2 year	Feed	Rat
8530	8163	19666-30-9	oxadiazon	90 day	Feed	Rat
8531	8163	19666-30-9	oxadiazon	90 day	Feed	Rat
8532	8163	19666-30-9	oxadiazon	2 year	Feed	Rat
8533	8163	19666-30-9	oxadiazon	2 year	Feed	Rat
8534	8164	153197-14-9	oxaziclomefone	90 day	Feed	Rat
8535	8164	153197-14-9	oxaziclomefone	2 year	Feed	Rat
8536	8165	10380-28-6	oxine Cu	90 day	Feed	Rat
8537	8165	10380-28-6	oxine Cu	90 day	Gavage	Rat
8538	8166	14698-29-4	oxolinic acid	90 day	Feed	Rat
8539	8166	14698-29-4	oxolinic acid	6 month	Feed	Rat
8540	8166	14698-29-4	oxolinic acid	90 day	Feed	Rat
8541	8166	14698-29-4	oxolinic acid	2 year	Feed	Rat
8542	8167	42874-03-3	oxyfluorfen	90 day	Feed	Rat
8543	8167	42874-03-3	oxyfluorfen	90 day	Feed	Rat
8544	8167	42874-03-3	oxyfluorfen	90 day	Feed	Rat
8645	8167	42874-03-3	oxyfluorfen	2 year	Feed	Rat
8546	8168	66063-05-6	pencycuron	14 week	Feed	Rat
8547	8168	66063-05-6	pencycuron	90 day	Feed	Rat
8548	8168	66063-05-6	pencycuron	2 year	Feed	Rat
8549	8169	40487-42-1	pendimethalin	90 day	Feed	Rat
8550	8169	40487-42-1	pendimethalin	90 day	Feed	Rat
8551	8169	40487-42-1	pendimethalin	90 day	Feed	Rat
8552	8169	40487-42-1	pendimethalin	2 year	Feed	Rat
8553	8170	494793-67-8	penflufen	90 day	Feed	Rat
8554	8170	494793-67-8	penflufen	90 day	Feed	Rat
8555	8170	494793-67-8	penflufen	90 day	Feed	Rat
8556	8170	494793-67-8	penflufen	2 year	Feed	Rat
8557	8171	219714-96-2	penoxsulam	90 day	Feed	Rat
8558	8171	219714-96-2	penoxsulam	1 year	Feed	Rat
8559	8171	219714-96-2	penoxsulam	2 year	Feed	Rat
8560	8172	183675-82-3	penthioopyrad	90 day	Feed	Rat
8561	8172	183675-82-3	penthioopyrad	90 day	Feed	Rat
8562	8172	183675-82-3	penthioopyrad	1 year	Feed	Rat
8563	8173	110956-75-7	pentoxazone	90 day	Feed	Rat
8564	8173	110956-75-7	pentoxazone	2 year	Feed	Rat
8565	8174	2597-03-7	phenthoate	90 day	Feed	Rat
8566	8174	2597-03-7	phenthoate	90 day	Feed	Rat
8567	8174	2597-03-7	phenthoate	2 year	Feed	Rat
8568	8175	137641-05-5	picolinafen	90 day	Feed	Rat
8569	8175	137641-05-5	picolinafen	2 year	Feed	Rat
8570	8176	23103-98-2	pirimicarb	90 day	Feed	Rat
8571	8176	23103-98-2	pirimicarb	104W	Feed	Rat
8572	8177	51218-49-6	pretilachlor	90 day	Feed	Rat
8573	8177	51218-49-6	pretilachlor	90 day	Feed	Rat
8574	8177	51218-49-6	pretilachlor	2 year	Feed	Rat
8575	8178	86209-51-0	primisulfuron-methyl	90 day	Feed	Rat
8576	8178	86209-51-0	primisulfuron-methyl	2 year	Feed	Rat

Study_No.	Chem_No.	CAS_No.	Test Chemical	Administration period	Route	Species
8577	8179	32809-16-8	procymidone	6 month	Feed	Rat
8578	8179	32809-16-8	procymidone	2 year	Feed	Rat
8579	8180	158474-72-7	prohydrojasmon	90 day	Feed	Rat
8580	8180	158474-72-7	prohydrojasmon	90 day	Feed	Rat
8581	8180	158474-72-7	prohydrojasmon	2 year	Feed	Rat
8582	8181	25606-41-1	propamocarb hydrochloride	90 day	Feed	Rat
8583	8181	25606-41-1	propamocarb hydrochloride	90 day	Feed	Rat
8584	8181	25606-41-1	propamocarb hydrochloride	90 day	Feed	Rat
8585	8181	25606-41-1	propamocarb hydrochloride	90 day	Feed	Rat
8586	8181	25606-41-1	propamocarb hydrochloride	1 year	Feed	Rat
8587	8181	25606-41-1	propamocarb hydrochloride	2 year	Feed	Rat
8588	8181	25606-41-1	propamocarb hydrochloride	2 year	Feed	Rat
8589	8182	2312-35-8	propargite	90 day	Feed	Rat
8590	8182	2312-35-8	propargite	90 day	Feed	Rat
8591	8182	2312-35-8	propargite	2 year	Feed	Rat
8592	8183	122-42-9	propham	90 day	Feed	Rat
8593	8183	122-42-9	propham	1 year	Feed	Rat
8594	8183	122-42-9	propham	2 year	Feed	Rat
8595	8184	60207-90-1	propiconazole	90 day	Feed	Rat
8596	8184	60207-90-1	propiconazole	2 year	Feed	Rat
8597	8185	23950-58-5	propyzamide	90 day	Feed	Rat
8598	8185	23950-58-5	propyzamide	2 year	Feed	Rat
8599	8186	52888-80-9	prosulfocarb	90 day	Feed	Rat
8600	8186	52888-80-9	prosulfocarb	90 day	Feed	Rat
8601	8186	52888-80-9	prosulfocarb	2 year	Feed	Rat
8602	8187	926914-55-8	pyflubumide	90 day	Feed	Rat
8603	8187	926914-55-8	pyflubumide	1 year	Feed	Rat
8604	8188	123312-89-0	pymetrozine	90 day	Feed	Rat
8605	8188	123312-89-0	pymetrozine	90 day	Feed	Rat
8606	8188	123312-89-0	pymetrozine	2 year	Feed	Rat
8607	8189	158353-15-2	pyraclonil	90 day	Feed	Rat
8608	8189	158353-15-2	pyraclonil	90 day	Feed	Rat
8609	8189	158353-15-2	pyraclonil	2 year	Feed	Rat
8610	8190	175013-18-0	pyraclostrobin	90 day	Feed	Rat
8611	8190	175013-18-0	pyraclostrobin	90 day	Feed	Rat
8612	8190	175013-18-0	pyraclostrobin	2 year	Feed	Rat
8613	8191	365400-11-9	pyrasulfotole	90 day	Feed	Rat
8614	8191	365400-11-9	pyrasulfotole	90 day	Feed	Rat
8615	8191	365400-11-9	pyrasulfotole	2 year	Feed	Rat
8616	8192	93697-74-6	pyrazosulfuron-ethyl	90 day	Feed	Rat
8617	8192	93697-74-6	pyrazosulfuron-ethyl	90 day	Feed	Rat
8618	8192	93697-74-6	pyrazosulfuron-ethyl	2 year	Feed	Rat
8619	8193	799247-52-2	pyribencarb	90 day	Feed	Rat
8620	8193	799247-52-2	pyribencarb	1 year	Feed	Rat
8621	8194	88678-67-5	pyributicarb	90 day	Feed	Rat
8622	8194	88678-67-5	pyributicarb	90 day	Feed	Rat
8623	8194	88678-67-5	pyributicarb	2 year	Feed	Rat
8624	8195	96489-71-3	pyridaben	90 day	Feed	Rat
8625	8195	96489-71-3	pyridaben	90 day	Feed	Rat
8626	8195	96489-71-3	pyridaben	2 year	Feed	Rat
8627	8196	179101-81-6	pyridalyl	90 day	Feed	Rat
8628	8196	179101-81-6	pyridalyl	90 day	Feed	Rat
8629	8196	179101-81-6	pyridalyl	2 year	Feed	Rat
8630	8197	337458-27-2	pyrifluquinazon	90 day	Feed	Rat
8631	8197	337458-27-2	pyrifluquinazon	90 day	Feed	Rat
8632	8197	337458-27-2	pyrifluquinazon	1 year	Feed	Rat
8633	8198	135186-78-6	pyrifitalid	90 day	Feed	Rat

Study_No.	Chem_No.	CAS_No.	Test Chemical	Administration period	Route	Species
8634	8198	135186-78-6	pyriftalid	90 day	Feed	Rat
8635	8198	135186-78-6	pyriftalid	2 year	Feed	Rat
8636	8199	131341-86-1	pyrimethanil	90 day	Feed	Rat
8637	8199	131341-86-1	pyrimethanil	90 day	Feed	Rat
8638	8199	131341-86-1	pyrimethanil	2 year	Feed	Rat
8639	8200	105779-78-0	pyrimidifen	90 day	Feed	Rat
8640	8200	105779-78-0	pyrimidifen	90 day	Feed	Rat
8641	8200	105779-78-0	pyrimidifen	2 year	Feed	Rat
8642	8201	136191-64-5	pyriminobac-methyl	90 day	Feed	Rat
8643	8201	136191-64-5	pyriminobac-methyl	2 year	Feed	Rat
8644	8202	221205-90-9	pyrimisulfan	90 day	Feed	Rat
8645	8202	221205-90-9	pyrimisulfan	90 day	Feed	Rat
8646	8202	221205-90-9	pyrimisulfan	2 year	Feed	Rat
8647	8203	688046-61-9	pyriofenone	90 day	Feed	Rat
8648	8203	688046-61-9	pyriofenone	90 day	Feed	Rat
8649	8203	688046-61-9	pyriofenone	1 year	Feed	Rat
8650	8204	95737-68-1	pyriproxyfen	90 day	Feed	Rat
8651	8204	95737-68-1	pyriproxyfen	6 month	Feed	Rat
8652	8204	95737-68-1	pyriproxyfen	2 year	Feed	Rat
8653	8205	2797-51-5	quinoclamine	90 day	Feed	Rat
8654	8205	2797-51-5	quinoclamine	90 day	Feed	Rat
8655	8205	2797-51-5	quinoclamine	90 day	Feed	Rat
8656	8205	2797-51-5	quinoclamine	2 year	Feed	Rat
8657-2	8205	2797-51-5	quinoclamine	2 year	Feed	Rat
8658	8206	76578-14-8	quizalofop-ethyl	90 day	Feed	Rat
8659	8206	76578-14-8	quizalofop-ethyl	90 day	Feed	Rat
8660	8206	76578-14-8	quizalofop-ethyl	2 year	Feed	Rat
8661	8207	372137-35-4	Saflufenacil	90 day	Feed	Rat
8662	8207	372137-35-4	Saflufenacil	90 day	Feed	Rat
8663	8207	372137-35-4	Saflufenacil	2 year	Feed	Rat
8664	8208	105024-66-6	silafuofen	90 day	Feed	Rat
8665	8208	105024-66-6	silafuofen	2 year	Feed	Rat
8666	8209	149508-90-7	simeconazole	90 day	Feed	Rat
8667	8209	149508-90-7	simeconazole	2 year	Feed	Rat
8668	8210	187166-40-1	spinetoram	90 day	Feed	Rat
8669	8210	187166-40-1	spinetoram	1 year	Feed	Rat
8670	8210	187166-40-1	spinetoram	2 year	Feed	Rat
8671	8211	168316-95-8	spinosad	90 day	Feed	Rat
8672	8211	168316-95-8	spinosad	90 day	Feed	Rat
8673	8211	168316-95-8	spinosad	2 year	Feed	Rat
8674	8212	148477-71-8	spirodiclofen	90 day	Feed	Rat
8675	8212	148477-71-8	spirodiclofen	90 day	Feed	Rat
8676	8212	148477-71-8	spirodiclofen	2 year	Feed	Rat
8677	8213	283594-90-1	spiromesifen	90 day	Feed	Rat
8678	8213	283594-90-1	spiromesifen	90 day	Feed	Rat
8679	8213	283594-90-1	spiromesifen	1 year	Feed	Rat
8680	8214	203313-25-1	spirotetramat	90 day	Feed	Rat
8681	8214	203313-25-1	spirotetramat	1 year	Feed	Rat
8681-2	8214	203313-25-1	spirotetramat	2 year	Feed	Rat
8682	8215	102851-06-9	tau-fluvalinate	90 day	Feed	Rat
8683	8215	102851-06-9	tau-fluvalinate	90 day	Feed	Rat
8684	8215	102851-06-9	tau-fluvalinate	90 day	Feed	Rat
8685	8215	102851-06-9	tau-fluvalinate	2 year	Feed	Rat
8686	8216	112410-23-8	tebufenozide	90 day	Feed	Rat
8687	8216	112410-23-8	tebufenozide	2 year	Feed	Rat
8688	8217	376645-78-2	tebufloquin	90 day	Feed	Rat
8689	8217	376645-78-2	tebufloquin	1 year	Feed	Rat

Study_No.	Chem_No.	CAS_No.	Test Chemical	Administration period	Route	Species
8690	8218	83121-18-0	teflubenzuron	90 day	Feed	Rat
8691	8218	83121-18-0	teflubenzuron	120 week	Feed	Rat
8692	8218	83121-18-0	teflubenzuron	2 year	Feed	Rat
8693	8219	473278-76-1	tefuryltrione	90 day	Feed	Rat
8694	8219	473278-76-1	tefuryltrione	90 day	Feed	Rat
8695	8219	473278-76-1	tefuryltrione	2 year	Feed	Rat
8696	8220	153719-23-4	thiamethoxam	90 day	Feed	Rat
8697	8220	153719-23-4	thiamethoxam	90 day	Feed	Rat
8698	8220	153719-23-4	thiamethoxam	2 year	Feed	Rat
8699	8221	117718-60-2	thiazopyr	90 day	Feed	Rat
8700	8221	117718-60-2	thiazopyr	2 year	Feed	Rat
8701	8222	51707-55-2	thidiazuron	90 day	Feed	Rat
8702	8222	51707-55-2	thidiazuron	2 year	Feed	Rat
8703	8223	130000-40-7	thifluzamide	90 day	Feed	Rat
8704	8223	130000-40-7	thifluzamide	2 year	Feed	Rat
8705	8224	28249-77-6	thiobencarb	90 day	Feed	Rat
8706	8224	28249-77-6	thiobencarb	90 day	Feed	Rat
8707	8224	28249-77-6	thiobencarb	6 month	Feed	Rat
8708	8224	28249-77-6	thiobencarb	2 year	Feed	Rat
8709	8225	223580-51-6	tiadinil	90 day	Feed	Rat
8710	8225	223580-51-6	tiadinil	90 day	Feed	Rat
8711	8225	223580-51-6	tiadinil	2 year	Feed	Rat
8712	8226	129558-76-5	tolfenpyrad	90 day	Feed	Rat
8713	8226	129558-76-5	tolfenpyrad	90 day	Feed	Rat
8714	8226	129558-76-5	tolfenpyrad	2 year	Feed	Rat
8715	8227	731-27-1	tolyfluanid	90 day	Feed	Rat
8716	8227	731-27-1	tolyfluanid	90 day	Feed	Rat
8717	8227	731-27-1	tolyfluanid	2 year	Feed	Rat
8718	8227	731-27-1	tolyfluanid	2 year	Feed	Rat
8719	8228	24017-47-8	triazophos	90 day	Feed	Rat
8720	8228	24017-47-8	triazophos	90 day	Feed	Rat
8721	8228	24017-47-8	triazophos	2 year	Feed	Rat
8723	8229	78-48-8	tribufos	2 year	Feed	Rat
8724	8230	41814-78-2	tricyclazole	90 day	Feed	Rat
8725	8230	41814-78-2	tricyclazole	1 year	Feed	Rat
8726	8230	41814-78-2	tricyclazole	2 year	Feed	Rat
8727	8230	41814-78-2	tricyclazole	2 year	Feed	Rat
8728	8231	141517-21-7	trifloxystrobin	90 day	Feed	Rat
8729	8231	141517-21-7	trifloxystrobin	2 year	Feed	Rat
8730	8232	68694-11-1	triflumizole	90 day	Feed	Rat
8731	8232	68694-11-1	triflumizole	90 day	Feed	Rat
8732	8232	68694-11-1	triflumizole	2 year	Feed	Rat
8733	8233	1582-09-8	trifluralin	90 day	Feed	Rat
8734	8233	1582-09-8	trifluralin	90 day	Feed	Rat
8735	8233	1582-09-8	trifluralin	90 day	Feed	Rat
8736	8233	1582-09-8	trifluralin	2 year	Feed	Rat
8737	8234	126535-15-7	triflusulfuron-methyl	90 day	Feed	Rat
8738	8234	126535-15-7	triflusulfuron-methyl	90 day	Feed	Rat
8739	8234	126535-15-7	triflusulfuron-methyl	90 day	Feed	Rat
8740	8234	126535-15-7	triflusulfuron-methyl	2 year	Feed	Rat
8741	8235	95266-40-3	trinexapac-ethyl	90 day	Feed	Rat
8742	8235	95266-40-3	trinexapac-ethyl	2 year	Feed	Rat