

反復投与毒性の*in silico*評価手法 と評価支援システムHESSの開発

NITE化学物質管理センター成果発表会2012

化学物質管理センター
安全審査課 櫻谷 祐企

活動目的: 化審法における*in silico*評価手法の利用開発

		2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012
NITE (Q)SAR Team	研究開発 プロジェクト	NEDO「既存化学物質安全性点検事業の加速化」 (西原PL) CERI分解性・蓄積性QSARモデルの 新規化学物質試験データによる検証						NEDO/METI「構造活性相関手法による 有害性評価手法開発」(林PL) 反復投与毒性を対象としたカテゴリーアプ ローチの評価支援システムの開発					
	NITE QSAR 委員会					分解性・蓄積性QSAR 行政利用検討			蓄積性カテゴリーアプ ローチ 手法開発				
	化審法 支援業務					審議会審査参考資料の作成 (分解性・蓄積性)			未点検既存化学物質の試験実施優先順位付け (分解性・蓄積性)				
OECD (Q)SAR プログラム			QSARバリデー ション原則 の開発		QSARガ イダンス 文書の 開発		(Q)SAR Toolboxの開発と運用 →AOPコンセプト						

③ 有害性評価支援システム 統合プラットフォーム (HESS)

全て
英語表記

ユーザー

① 毒性知識情報

試験報告書DB

毒性作用機序DB

② 代謝知識情報

ラット代謝マップDB
(ラット代謝シミュレータ)

ADME DB
(ヒトP450代謝予測)

ベイジアンネット
毒性推定システム
(ToxBay)

カテゴリーアプローチ支援機能
(カテゴリーライブラリー等)

入力

反復投与毒性を
評価したい化学物質
の化学構造、物質名
CAS番号など

出力

評価対象物質や
その類縁物質の
反復投与試験情報
作用機序情報、
カテゴリー情報、
推定される毒性等

参照資料

エキスパート
ジャッジ

未試験物質の
反復投与毒性

OECD (Q)SAR Toolbox

互換性

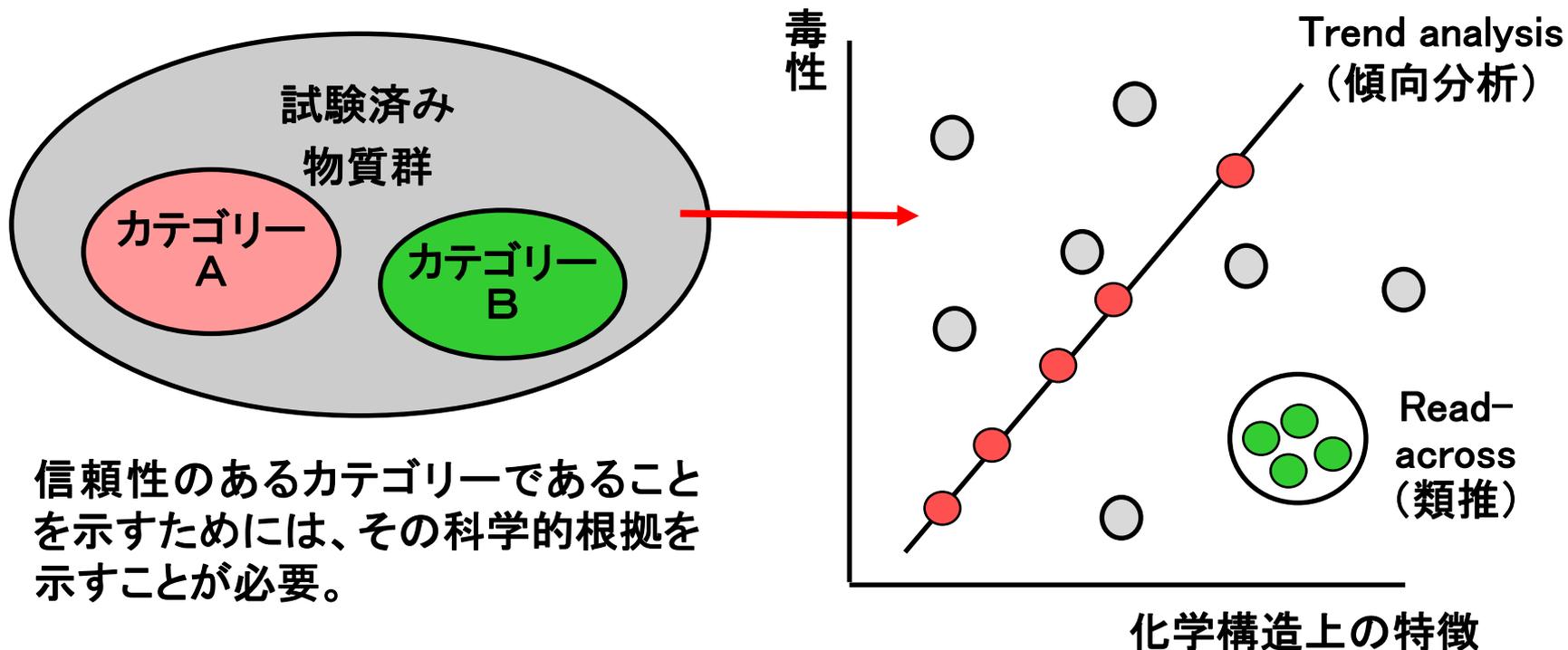
HMSS DB

発表内容

1. 開発の背景
2. 評価手法の開発
3. 評価支援システム (HESS) の開発
4. HESS の運用

1 開発の背景

化学物質管理分野において未試験の化学物質の有害性を推定する手段として国際的に推奨されている手法。同じカテゴリーの類似物質のデータを用いて傾向分析 (Trend analysis) や類推 (Read-across) によるデータギャップ補完を行う。



信頼性のあるカテゴリーであることを示すためには、その科学的根拠を示すことが必要。

カテゴリーアプローチの評価手法や、これに必要となる各種試験データや毒性発現メカニズムに関する既知見を国際的に共有化するために開発された評価支援システムであり、2008年3月に一般公開された。

蛋白結合やDNA結合などの反応様式に基づき、毒性発現の原因となる部分構造を認識する機能(プロファイラー)と、各種エンドポイントの実測試験データのデータベースを備えている。

ユーザーは、プロファイラーにより毒性発現の原因となる共通の部分構造を有する物質群(カテゴリーの候補)を効率よく認識できると共に、それらの物質群の実測試験データを基に毒性発現の傾向を解析することにより、カテゴリーを構築しデータギャップ補完を行うことができる。

これまで、構造活性相関[(Q)SAR]を中心とした*in silico*評価手法が確立されているのは、魚類急性毒性や変異原性試験など構造と毒性の関係を把握し易い一部のエンドポイントに限られている。

近年のOECDの関連活動では、反復投与毒性など毒性メカニズムが複雑で構造と毒性の関係を把握し難いエンドポイントに対する実用的なカテゴリーアプローチ手法の開発を最重要課題としている。

特に、反復投与毒性試験は、我が国の化学物質審査規制法(化審法)や欧州のREACH等において最も重要な評価項目の一つであり、早急な手法開発が望まれている。

本プロジェクト実施者の毒性・病理専門家の知見を活用し、反復投与毒性試験で認められた所見を、カテゴリーアプローチにおける発現毒性の類似性を示すための根拠として活用することを試みた。

また、毒性のメカニズムの類似性を示す根拠として、プロジェクトで網羅的に収集され体系的に整理された毒性メカニズム情報及び代謝情報を活用することにより、信頼性の高いカテゴリーの構築を試みた。

反復投与毒性試験データ(500物質)
毒性メカニズム情報、代謝情報等

解析

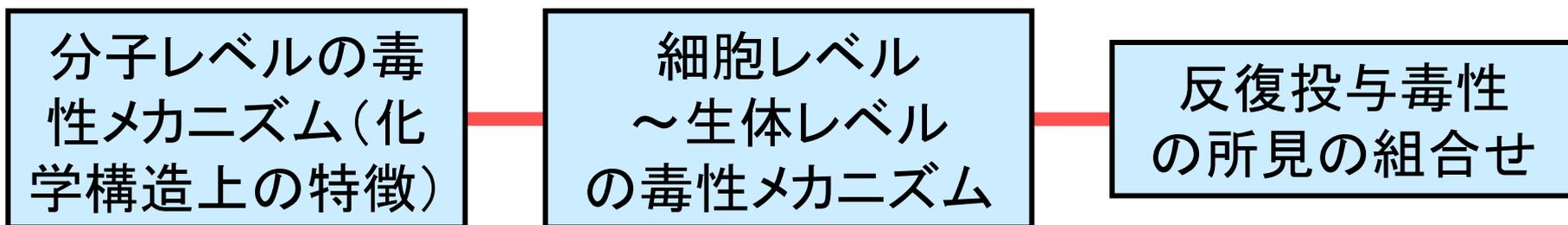
カテゴリーライブラリー(33カテゴリー)

搭載

有害性評価支援システム統合プラットフォーム(HESS)
のカテゴリーアプローチ支援機能

2 評価手法の開発

反復投与毒性におけるAdverse Outcome Pathway (AOP) を下記のように定義し、共通のAOPが想定できる物質群をカテゴリーとして捉える。



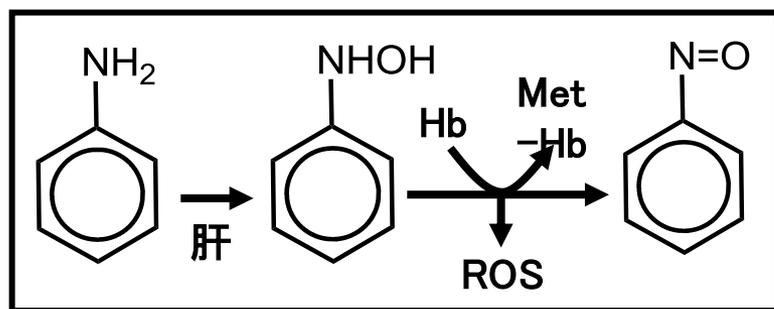
- ・毒性・病理専門家の知見を基に、発現毒性の類似性を検討。
- ・HESS DB開発で集積・整理された詳細な情報をAOP作成の根拠として活用。

カテゴリー化の根拠とするため、特定の毒性傾向が知られている物質群 (Class Effect) に対し、AOPを構築する。

例：アニリン類の溶血性貧血に対するAOP

分子→細胞→生体レベルの毒性メカニズム
(文献情報を基に構築)

関連する
反復投与毒性所見
(毒性・病理専門家の
知見を基に構築)

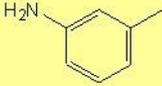
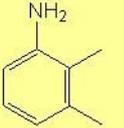
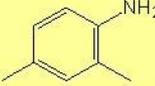
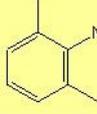
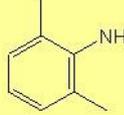
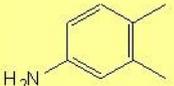


ROSによる
赤血球脂質
膜過酸化

溶血(脾臓での貪食)

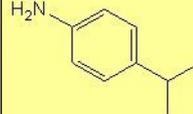
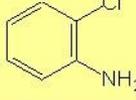
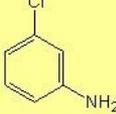
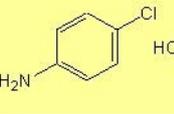
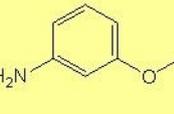
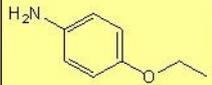
RBC ↓, HGB ↓
HTC ↓,
Reticulo ↑
Met-Hb ↑, T-bil ↑
脾-ヘモジデリン
沈着
髄外造血亢進(代
償作用) 等

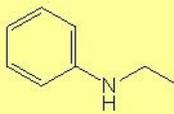
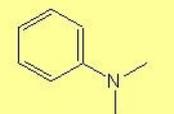
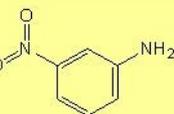
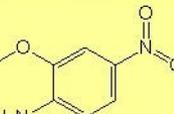
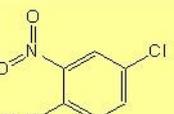
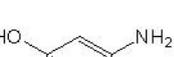
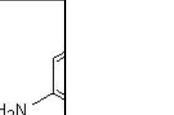
→どのようなアニリン類が該当するのか？

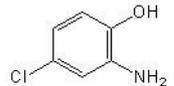
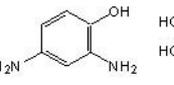
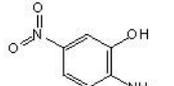
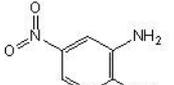
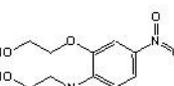
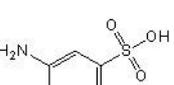
	化学構造	反復投与毒性試験で認められた 溶血性貧血に関する所見
1		Hgb ↓: 250♂, RBC ↓: 250♂, Ret ↑: 250♂ Bil ↑: >100♂ 脾臓-絶対重量 ↑: 250♂, 相対重量 ↑: 250♂ 脾臓-髄外造血亢進: 250♂, 鬱血: 250♂, ヘモジデリン沈着: 250♂
2		RBC ↓: >60♀, 300♂, Hgb ↓: >60♀♂, Hct ↓: >60♀, 300♂, Ret ↑: 300♀♂, Met-Hb ↑: >60♀, 300♂ T-Bil ↑: 300♀♂ 脾臓-絶対重量 ↑: 300♂, 相対重量 ↑: 300♂ 脾臓-ヘモジデリン沈着 >12♀, 髄外造血亢進: 300♀♂, 鬱血: 300♂ 肝臓-髄外造血亢進: 300♀♂, ヘモジデリン沈着: 300♀♂
3		Hgb ↓: >10♂, 50♀ Bil ↑: >2♂, 50♀
4		Hgb ↓: 250♂, RBC ↓: 250♂, Ret ↑: 250♂, Met-HGB ↑: 250♂ 脾臓-絶対重量 ↑: 250♂, 相対重量 ↑: 250♂ 髄外造血亢進: 250♂, ヘモジデリン沈着: 250♂
5		RBC ↓: 310♂, Hgb ↓: >160♂♀, Hct ↓: 310♂♀
6		RBC ↓: 250♂♀, Hgb ↓: 250♂♀, Hct ↓: 250♂♀ 脾臓-絶対重量 ↑: 250♂, 相対重量 ↑: 250♂ 脾臓-鬱血: 250♂♀, 色素沈着: 250♂♀ 肝臓-色素沈着: 250♂♀, 髄外造血亢進: 250♂♀
7		RBC ↓: >60♀, 360♂, Hgb ↓: >60♀♂, Hct ↓: 60♂, 360♀, Ret ↑: >60♀♂, Met-Hb ↑: >60♀♂

→アルキルアニリンやハロゲン化アニリン類は、
溶血性貧血に関する所見が低用量で認められる傾向にある

>25♂♀

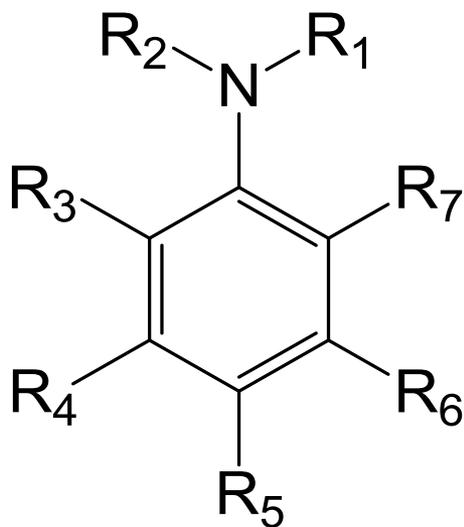
	化学構造	反復投与毒性試験で認められた 溶血性貧血に関する所見
8		RBC ↓: 60♂, Hgb ↓: 60♂, Hct ↓: 60♂, Ret ↑: 60♂, Met-Hgb ↑: >20♂ Bil ↑: 60♂ 脾臓-絶対重量 ↑: 60♂ 脾臓-鬱血: >20♂, 色素沈着: >20♂, 髄外造血亢進: >20♂ 肝臓-色素沈着: 60♂
9		RBC ↓: >20♀・>80♂, Hgb ↓: >20♀・>40♂, Hct ↓: >80♂♀, Ret ↑: >20♀・>40♂, Met-Hgb ↑: >10♂♀ 脾臓-絶対重量 ↑: 40♂♀, 相対重量 ↑: 40♂♀ 脾臓-色素沈着: >80♀・160♂ 肝臓-ヘモジデリン色素沈着: 160♂♀
10		Hct ↓: >10♀・>20♂, RBC ↓: >10♀・>20♂, Hgb ↓: >10♂♀, Ret ↑: >10♂♀, Met-Hgb ↑: >10♂♀ 脾臓-絶対重量 ↑: 20♂♀, 相対重量 ↑: 20♀・40♂ 鬱血: >10♂・>20♀, ヘモジデリン色素沈着: >10♂♀
11		Hct ↓: >5♂♀, Hgb ↓: >5♂♀, RBC ↓: >5♂♀, Met-Hgb ↑: >5♂♀ 脾臓-絶対重量 ↑: 20♂・5♀ 脾臓-髄外造血亢進: >5♂, >10♀, 鬱血: >5♂♀ 肝臓-色素沈着: >10♀, >20♂, 髄外造血亢進: >10♂, >40♀
12		RBC ↓: >60♂, Hgb ↓: >60♂, Hct ↓: >60♂, Ret ↑: 300♂ Bil ↑: >60♂ 脾臓-絶対重量 ↑: 300♂, 相対重量 ↑: 300♂ 脾臓-鬱血: >60♂, 髄外造血亢進: >2.4♂, 色素沈着: >12♂ 肝臓-髄外造血亢進: 300♂, 色素沈着: 300♂
13		Hgb ↓: >40♂♀, Hct ↓: >40♂♀, RBC ↓: >40♂♀ 脾臓-絶対重量: 40♂♀, 相対重量: 40♂♀ 脾臓-色素沈着: 40♂♀, 色素沈着 ↑: >40♂♀, 鬱血: >40♂♀

	化学構造	反復投与毒性試験で認められた溶血性貧血に関する所見
15		RBC ↓: >5♂♀, Hgb ↓: >5♀, >25♂, Hct ↓: >5♀, >25♂, Met-Hgb ↑: >25♂♀, Ret ↑: >25♂♀ 脾臓-絶対重量 ↑: 5♂・25♀, 相対重量 ↑: 5♂・25♀ 脾臓-ヘモジデリン沈着、髄外造血亢進: >5♀, >25♂, 鬱血: >25♂♀ 肝臓-ヘモジデリン沈着: >25♀, 125♂, 髄外造血亢進: 125♂♀
16		脾臓-髄外造血亢進: >31♂♀, ヘモジデリン沈着: >31♂♀ 肝臓-色素沈着: >62♂♀
17		Hgb ↓: >15♂♀, Hct ↓: >15♂♀, RBC ↓: >15♂♀, Ret ↑: >50♂♀ 脾臓-絶対重量: 50♂♀, 相対重量: 15♂・50♀ 脾臓-ヘモジデリン沈着: >15, 髄外造血亢進: >15, 鬱血: >15 肝臓-ヘモジデリン沈着: 170, 髄外造血亢進: 170
18		Hgb ↓: 300♀♂, Hct ↓: >100♀, 300♂, RBC ↓: 300♀♂, Ret ↑: 300♀♂ 脾臓-絶対重量 ↑: 300♂, 相対重量 ↑: 300♂♀ 脾臓-色素沈着: 300♀♂, 髄外造血亢進: 300♀♂ 肝臓-色素沈着: 300♀, 髄外造血亢進: 300♀
19		Hct ↓: >60♂, Ret ↑: 300♂
20		Hgb ↓: 720♀, RBC ↓: 720♀, Ret ↑: 720♀ Bil ↑: 720♀♂ 脾臓-絶対重量 ↑: 720♀, 相対重量 ↑: 720♀
21		

	化学構造	反復投与毒性試験で認められた溶血性貧血に関する所見
22		RBC ↓: 250♂, Hgb ↓: 250♂, Hct ↓: 250♂, Ret ↑: 250♂, 脾臓-絶対重量 ↑: 250♂, 相対重量 ↑: 250♂ 脾臓-髄外造血亢進: 250♂, ヘモジデリン沈着: 250♂
23		HCl 脾臓-髄外造血亢進: >12♀, >100♂ HCl 肝臓-色素沈着: >100♂
24		-
25		-
26		-
27		-

→アミノフェノール類や、アミノベンゼンスルホン酸類は、溶血性貧血に関する所見が低用量で認められない傾向にある（脂溶性が支配要因である可能性が示唆される）

反復投与毒性試験条件下で対象とする毒性が低用量で発現する傾向が確認できた構造領域を定義。



$R_1, R_2 = \text{H, methyl or ethyl.}$
 $R_3 \sim R_7 = \text{H, alkyl, halo,}$
 $\text{alkoxy, NO}_2, \text{NH}_2$

※ なお、ここで定義するカテゴリーの構造領域は、評価者に類似物質の候補を提供するためのものであり、データギャップ補完に用いる類似物質を確定するための、より詳細なカテゴリー作成は評価者自身がデータベースの情報を用いて行うことを想定している。

No.	カテゴリー (影響)	物質数	各影響のLOEL (mg/kg/day)	信頼性ランク
1	Azobenzenes (溶血性貧血)	2	0.6±5.7	B
2	Imidazole-2-thione derivatives (甲状腺毒性)	2	5.5±5.8	B
3	Diphenyl disulfides (溶血性貧血)	1	30	B
4	Hydrazines (溶血性貧血)	2	20±127	B
5	Acrylamides (神経毒性)	2	21±111	B
6	Oximes (溶血性貧血)	3	23±7	B
7	Aliphatic nitriles (肝毒性)	4	33±46	B
8	Nitrobenzenes (溶血性貧血)	12	54±82	A
9	Hydroquinones (肝毒性)	2	55±64	B
10	p-Aminophenols (腎毒性)	2	63±476	B
11	Phenyl Phosphates (副腎脂質代謝障害)	4	70±34	C
12	Anilines (溶血性貧血)	18	72±40	A
13	4,4'-Methylenedianilines/Benzidines (胆管毒性)	5	75±156	B
14	Aliphatic/Alicyclic hydrocarbons (α 2u-グロブリン腎症)	6	76±100	C
15	Aromatic Hydrocarbons (肝毒性)	9	83±51	C
16	N-Alkyl-N'-phenyl-p-phenylenediamine (溶血性貧血)	2	100	B

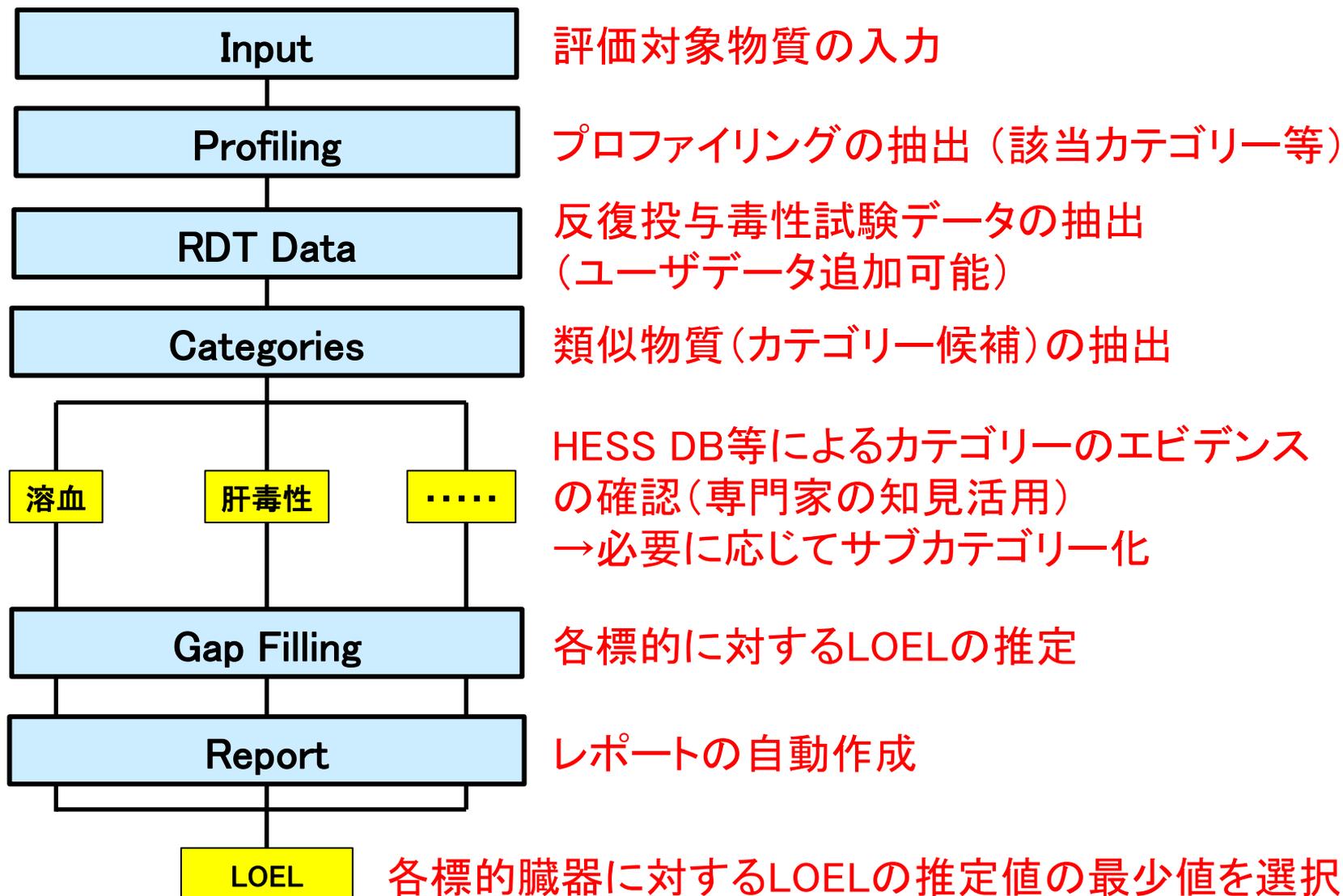
No.	カテゴリー (影響)	物質数	各影響のLOEL (mg/kg/day)	信頼性ランク
17	Halobenzenes (腎毒性)	9	101±79	A
18	Nitrobenzenes (肝毒性)	12	108±96	C
19	Ethyleneglycol Alkylethers (溶血性貧血)	5	110±192	A
20	Organophosphates (神経毒性)	7	116±98	A
21	Anilines (肝毒性)	18	146±70	C
22	Aliphatic amines (粘膜刺激)	6	148±202	C
23	Halobenzenes (肝毒性)	9	151±129	A
24	Benzene or Naphthalene sulfonic acid (Less susceptible)	13	223±355	C
25	Ethyleneglycol Alkylethers (精巢毒性)	2	231±2077	B
26	Nitrobenzenes (精巢毒性)	4	237±278	C
27	p-Alkylphenols (肝毒性)	7	250±381	A
28	o-/p-Aminophenols (溶血性貧血)	3	254±606	B
29	Benzain sulfonamide (尿路障害)	2	310±2414	B
30	Nitrophenols/Halophenols (ミトコンドリア機能障害)	13	314±218	C
31	Phenols (粘膜刺激性)	25	405±231	C
32	Halogenated Aliphatic Compounds (肝毒性)	17	533±756	C
33	Phthalate esters (精巢毒性)	3	886±1466	C

作成した33種類の 카테고리について以下の情報をHESSに搭載した。

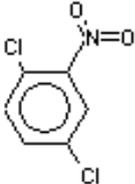
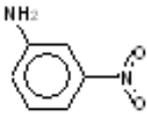
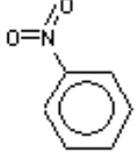
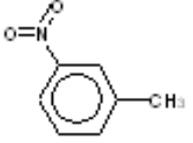
- ① カテゴリの構造領域
- ② カテゴリの根拠を記述したカテゴリレポート
- ③ カテゴリに関連する所見のセット

登録したこれらの情報によりユーザーが評価対象物質の化学構造をシステムに入力すると、評価対象物質が該当するカテゴリが認識され、カテゴリ化に必要な情報が提供される。

3 評価支援システム (HESS) の開発



反復投与毒性試験データの表示

Structure				
☑ Substance Identity				
☐ Repeated Dose Toxicity				
☐ LOEL				
☑ Blood Chemical Examination (9/56)		M: 15 mg/kg/day, 1...	M: 5 mg/kg/day, 20...	M: 192 mg/kg/day, ...
☑ General Signs (6/37)			M: 100 mg/kg/day, ...	M: 385 mg/kg/day, ...
☐ Hematological Examination				
☑ Blood Cell (2/3)		M: 15 mg/kg/day, 5...	M: 60 mg/kg/day	
☑ Blood Cell (Coagulation) (1/3)				
☐ Blood Cell (Erythrocyte)				
- RBC↓ (9/16)		M: 15 mg/kg/day, 1...	M: 20 mg/kg/day, 2...	M: 769 mg/kg/day, ...
- HGB↓ (10/17)		M: 15 mg/kg/day, 1...	M: 20 mg/kg/day, 2...	M: 769 mg/kg/day, ...
- HTC↓ (10/17)		M: 15 mg/kg/day, 1...	M: 20 mg/kg/day, 2...	M: 769 mg/kg/day, ...
- MCV↑ (4/7)		M: 50 mg/kg/day, 1...		M: 769 mg/kg/day, ...
- MCH↑ (3/5)		M: 50 mg/kg/day, 1...		M: 769 mg/kg/day, ...
- MCHC↓ (4/6)		M: 170 mg/kg/day, ...		M: 769 mg/kg/day, ...
- Reticulocyte↑ (10/14)		M: 50 mg/kg/day, 5...	M: 60 mg/kg/day	M: 385 mg/kg/day, ...
- Methemoglobin↑ (5/9)			M: 20 mg/kg/day	M: 192 mg/kg/day, ...
☑ Blood Cell (Leukocyte) (5/12)		M: 170 mg/kg/day	M: 25 mg/kg/day, 1...	
☑ Blood Cell (Platelet) (3/4)		M: 170 mg/kg/day		
☐ Histopathological Findings				
☑ Adrenal (2/2)		M: 170 mg/kg/day		
☑ Bone Marrow (3/6)		M: 50 mg/kg/day, 5...	M: 5 mg/kg/day, 20...	

評価対象物質

類似物質

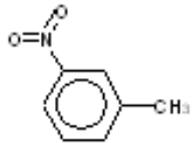
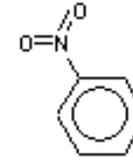
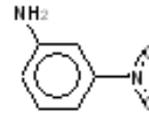
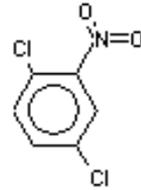
(ニトロベンゼン溶血性貧血カテゴリー)

赤血球数の低下に対するLOEL

483の項目で表現
反復投与毒性の所見を

反復投与毒性試験データの表示(フィルター)

Structure



最小値

溶血性貧血に対するLOEL

	Min	M: 15 mg/kg/day	M: 5 mg/kg/day	M: 48.1 mg/kg/day
Repeated Dose Toxicity				
LOEL				
Blood Chemical Examination (3/4)			M: 20 mg/kg/day	
Hematological Examination				
Blood Cell (Erythrocyte)				
RBC↓ (9/16)		M: 15 mg/kg/day, 1...	M: 20 mg/kg/day, 2...	M: 769 mg/kg/day, ...
HGB↓ (10/17)		M: 15 mg/kg/day, 1...	M: 20 mg/kg/day, 2...	M: 769 mg/kg/day, ...
HTC↓ (10/17)		M: 15 mg/kg/day, 1...	M: 20 mg/kg/day, 2...	M: 769 mg/kg/day, ...
Reticulocyte↑ (10/14)		M: 50 mg/kg/day, 5...	M: 60 mg/kg/day	M: 385 mg/kg/day, ...
Methemoglobin↑ (5/9)			M: 20 mg/kg/day	M: 192 mg/kg/day, ...
Histopathological Findings				
Liver				
Pigmentation (Hemosiderin) (3/4)			M: 20 mg/kg/day	
Pigmentation (Other) (1/2)			M: 125 mg/kg/day, ...	
Extramedullary Hematopoiesis (1/3)			M: 20 mg/kg/day, 1...	
Spleen				
Pigmentation (Hemosiderin) (7/12)			M: 20 mg/kg/day	M: 48.1 mg/kg/day, ...
Pigmentation (Other) (3/6)		M: 15 mg/kg/day, 1...	M: 5 mg/kg/day, 25...	
Congestion (5/9)			M: 5 mg/kg/day, 25...	M: 385 mg/kg/day, ...
Extramedullary Hematopoiesis (6/11)		M: 15 mg/kg/day, 1...	M: 5 mg/kg/day, 5 ...	
Organ Weights				
23 spleen (5/10)		M: 15 mg/kg/day, 5...	M: 20 mg/kg/day, 2...	

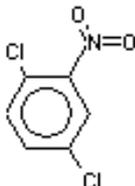
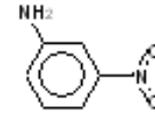
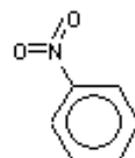
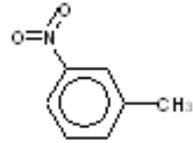
フィルター機能により溶血性貧血に関連する所見のみを表示。(カテゴリーに登録した所見のセットを利用することが可能)

詳細情報へのリンク

Filter endpoint tree...

Structure

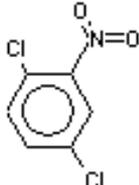
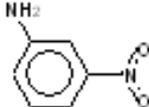
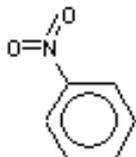
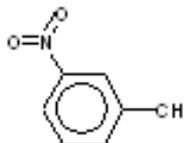
- Substance Identity
- Repeated Dose Toxicity
 - LOEL
 - NOEL
- Profile
 - Study No. (Link to SSRDT)
 - Chemical No. (Link to HESS DB)
 - RDT Report No.
 - CSCL Class
 - Rat Liver Metabolism Database
 - Repeated dose (HESS)

1 (Target)	2	3	4
			
(11/140) Min	M: 15 mg/kg/day	M: 5 mg/kg/day	M: 48.1 mg/kg/day
(12/263)	M: 15 mg/kg/day, 1...	M: 5 mg/kg/day, 5 ...	M: 96.2 mg/kg/day, ...
	5	499 642	296
	5	473	286
	5	477 535	289
	Designated (Type II...	Designated (Type II...	
N/A	Root of map No. 6 Metabolite in map ...	Root of map No. 593 Root of map No. 594	Root of map No. 228 Root of map No. 229
Nitrobenzenes (Hem...	Anilines (Hemolytic...	Nitrobenzenes (He...	Nitrobenzenes (He...
Nitrobenzenes (Hep...	Anilines (Hepatotox...	Nitrobenzenes (Hep...	Nitrobenzenes (Hep...
	Nitrobenzenes (He...	Nitrobenzenes (Tes...	Nitrobenzenes (Tes...
	Nitrobenzenes (Hep...		



各物質からHESS DB、ToxBay等にリンクし、詳細情報を参照することができる。

群別データの確認

Structure				
<input checked="" type="checkbox"/> Substance Identity <input type="checkbox"/> Repeated Dose Toxicity <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> LOEL <ul style="list-style-type: none"> <input checked="" type="checkbox"/> Blood Chemical Examination <input type="checkbox"/> Hematological Examination <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Blood Cell (Erythrocyte) <ul style="list-style-type: none"> RBC↓ (9/16) HGB↓ (10/17) HTC↓ (10/17) 	Min (3/4)	M: 15 mg/kg/day	M: 5 mg/kg/day M: 20 mg/kg/day	M: 48.1 mg/kg/day
		M: 15 mg/kg/day, 1...	M: 20 mg/kg/day, 2...	M: 769 mg/kg/day
		M: 15 mg/kg/day, 1...	M: 20 mg/kg/day, 2...	M: 769 mg/kg/day
		M: 15 mg/kg/day, 1...	M: 20 mg/kg/day, 2...	M: 769 mg/kg/day

M: 15 mg/kg/day, 1...



Study [HessDB_Search]

Chem_No. Chemical Data

Test Result | Test Method | Measured Data

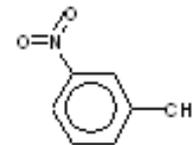
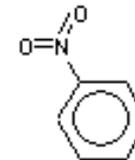
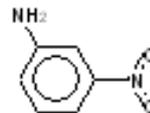
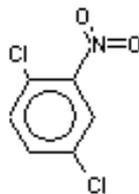
Test Item: Actual: Comment:

		Admin...																			
DOSE	mg/kg	0			15			50			170										
Experiment number		5			5			5			5										
		mean	SD	si...	F1	F3	mean	SD	si...	F1	F3	mean	SD	si...	F1	F3	mean	SD	si...	F1	F3
RBC	x10 ⁴ /μl	934	39.2		868	12	**	▽	781	16.8	**	▽	494	27	**	▽					
HGB	%	52.5	2.5		48.9	0.8	**	▽	48.2	1.1	**	▽	42.7	1.7	**	▽					
HCT	g/dL	15.6	0.23		14.5	0.21	**	▽	14.4	0.31	**	▽	11.8	0.52	**	▽					

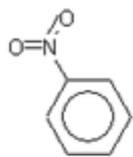
25

実測代謝マップの確認

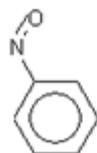
Structure



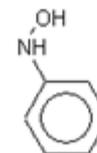
Reference: Levin, A. A., J. G. Dent, Drug Metab. Dispos., 10(5), (1982). (in vivo/in vitro), pp. 450 - 454



(6)

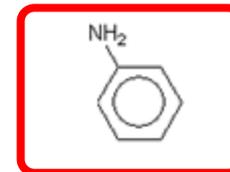


(7)



(8)

トキシカント



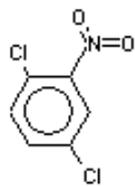
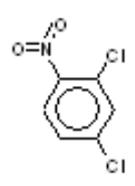
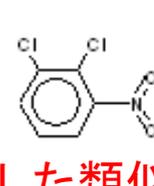
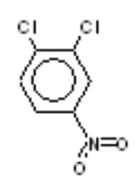
CSCL Class

26

er Metabolism Database

		535	
	Designated (Type II...	Designated (Type II...	
N/A	Root of map No. 6	Root of map No. 593	Root of map No. 228
	Metabolite in map ...	Root of map No. 594	Root of map No. 229
Nitrobenzenes (Hom...	Anilines (Homolytic	Nitrobenzenes (Ho...	Nitrobenzenes (Ho...

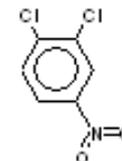
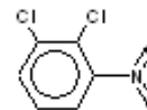
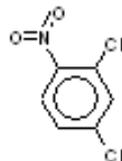
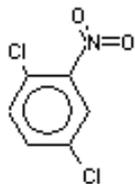
データギャップ補完(対象とする影響の選定)

Structure				
		確定した類似物質		
<input type="checkbox"/> Repeated Dose Toxicity <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> LOEL <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Blood Chemical Examination <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Blood Serum (Bilirubin) <ul style="list-style-type: none"> T. Bilirubin↑ (1/1) <input type="checkbox"/> Hematological Examination <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Blood Cell (Erythrocyte) <ul style="list-style-type: none"> RBC↓ (2/2) HGB↓ (3/3) HTC↓ (3/3) Reticulocyte↑ (3/3) <input type="checkbox"/> Histopathological Findings <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Liver <ul style="list-style-type: none"> Pigmentation (Hemosiderin) (1/1) <input type="checkbox"/> Spleen <ul style="list-style-type: none"> Pigmentation (Hemosiderin) (1/1) Congestion (1/1) Extramedullary Hematopoiesis (2/2) <input type="checkbox"/> Organ Weights <ul style="list-style-type: none"> <input type="checkbox"/> Spleen <ul style="list-style-type: none"> Absolute Organ Weight↑ (1/1) Relative Organ Weight↑ (1/1) 	Min	<div style="border: 2px solid red; padding: 2px;">M: 8 mg/kg/day</div>	<div style="border: 2px solid red; padding: 2px;">M: 25 mg/kg/day</div>	<div style="border: 2px solid red; padding: 2px;">M: 20 mg/kg/day</div>
		M: 40 mg/kg/day	M: 100 mg/kg/day	M: 100 mg/kg/day
		M: 40 mg/kg/day	M: 100 mg/kg/day	M: 20 mg/kg/day
				M: 100 mg/kg/day
			M: 25 mg/kg/day	
				M: 100 mg/kg/day
			M: 100 mg/kg/day	M: 100 mg/kg/day
				M: 100 mg/kg/day
				M: 100 mg/kg/day
		M: 8 mg/kg/day, 8 ...	M: 5 mg/kg/day, 25...	M: 4 mg/kg/day, 20...

データギャップ補完は、各影響に対してや、その組み合わせに対し行うことができる。この場合、フィルター機能を利用し、溶血性貧血に関連する所見の最小値に対し、データギャップ補完を行う。

データギャップ補完(結果)

Structure



LOEL

(11/140) Min

M: 8 mg/kg/day

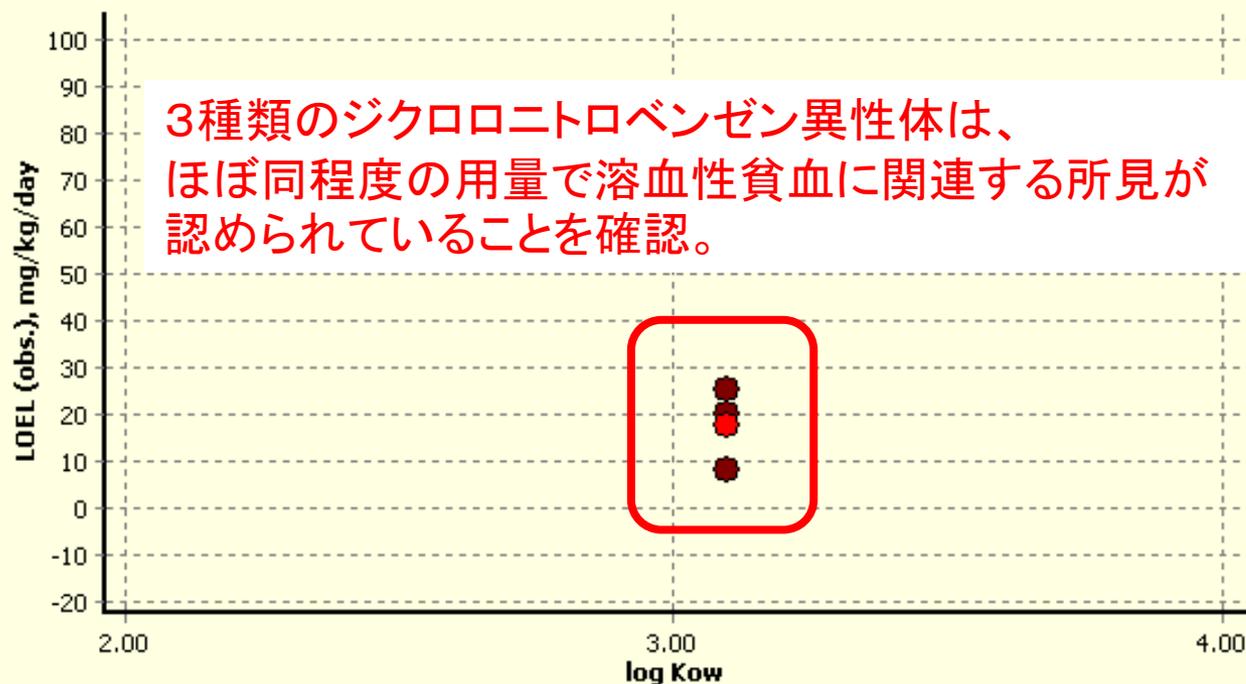
M: 25 mg/kg/day

M: 20 mg/kg/day

Descriptors

Prediction

Read across prediction of LOEL, taking the average from the nearest 5 neighbours, based on 3 data points from 3 neighbour chemicals, Observed target value: N/A, Predicted target value: 17.7 mg/kg/day



Accept prediction

Return to matrix

Select/filter data

Subcategorize

Mark chemicals by descriptor value

Filter points by test conditions

Mark focused chemical

Mark focused points

Remove marked chemicals/points

Clear existing marks

Selection navigation

Gap filling approach

Descriptors/data

Model/(Q)SAR

Calculation options

Visual options

Information

Miscellaneous

28

log Kow

AOPに基づいた信頼性の高い反復投与毒性のカテゴリーの実例を初めて示した。500物質の反復投与毒性試験データを基に33種類のカテゴリーを作成し、その内容をカテゴリーライブラリーとしてまとめHESSに搭載した。

OECD (Q)SAR Toolboxの方式をベースに、反復投与毒性の多様なデータを解析しデータギャップ補完を行うことを可能としたHESSのカテゴリーアプローチ支援機能を開発した。

1. カテゴリーアプローチの手法確立への貢献

- OECDのAOPに関するワークショップにおいて、開発した評価手法によるケーススタディを議論の題材として提供。AOPの有用性を示す実例として高い評価を受けた。

2. OECD (Q)SAR Toolbox への搭載

- 開発したカテゴリーライブラリーは、OECDからの要望により、反復投与毒性の初めてのプロファイラーとして(Q)SAR Toolbox搭載された。

3. ECHAによる評価

- HESS試用版についてトライアルユースのモニターを依頼した。評価手法の透明性や、カテゴリーライブラリーの科学的根拠の妥当性について高い評価を得ることができた。現在、ECHAでは、REACHの届出物質の評価にHESSを利用している。



Profiling Profiling Schemes

Apply New View Delete

Profiling methods

Select All Unselect All Invert

- Biodegradation fragments (BioWIN MITI)
 - Carcinogenicity (genotox and nongenotox)
 - Eye irritation/corrosion Exclusion rules by Bf
 - Eye irritation/corrosion Inclusion rules by Bf
 - in vitro mutagenicity (Ames test) alerts by I
 - in vivo mutagenicity (Micronucleus) alerts by I
 - Oncologic Primary Classification
 - Skin irritation/corrosion Exclusion rules by Bf
 - Skin irritation/corrosion Inclusion rules by Bf
- Empiric**
- Chemical elements
 - Groups of elements
 - Lipinski Rule Oasis
 - Organic Functional groups
 - Organic functional groups (US EPA)
 - Organic functional groups(nested)
 - Organic functional groups, Norbert Haider (
 - Tautomers_unstable

Toxicological

Repeated dose (HESS)

Metabolism

Select All Unselect All Invert

- Documented**
- Observed Liver metabolism
 - Observed Mammalian metabolism
 - Observed Microbial metabolism

- Simulated**
- Autoxidation simulator
 - Dissociation simulation
 - Hydrolysis (Acidic) Simulator
 - Hydrolysis (Basic) Simulator

Repeated dose (HESS) (Toxicological) - Profiling Scheme Browser

Advanced

Repeated dose (HESS) - Category defin

- [-] Repeated dose (HESS)
 - 2-Imidazolidinethionines (Thy
 - 4,4'-Methylenedianilines/Be
 - Acrylamides (Neurotoxicity)
 - Aliphatic amines (Mucous me
 - Aliphatic nitriles (Hepato tox
 - Aliphatic/Alicyclic hydrocarb
 - Anilines (Hemolytic anemia v**
 - Anilines (Hepato toxicity) Ra
 - Azobenzenes (Hemolytic an
 - Benzene/Naphthalene sulfo
 - Benzenesulfonamides (Toxic
 - Diphenyl Disulphides (Hemol
 - Ethyleneglycol Alkylethers (
 - Ethyleneglycol Alkylethers (
 - Halobenzenes (Hepato toxic
 - Halobenzenes (Renal toxicit
 - Halogenated Aliphatic Comp
 - Hydrazines (Hemolytic anem
 - N-Alkyl-N'-phenyl-p-phenyle
 - Nitrobenzenes (Hemolytic a
 - Nitrobenzenes (Hepato toxi
 - Nitrobenzenes (Testicular to
 - Nitrophenols/Harophenols (I
 - o-/p-Aminophenols (Hemoly
 - Organophosphates (Neurot
 - Oximes (Hemolytic anemia v
 - p-Alkylphenols (Hepatotoxic
 - p-Aminophenols (Renal toxic
 - Phenols (Mucous membrane
 - Phenyl phosphates (Lipodosis

Profile Description

Anilines (Hemolytic Anemia with methemoglobinemia) Rank A

1. Toxicity Information

The toxicant of methemoglobinemia induced by anilines is considered to be N-hydroxyl anilines that are metabolites of anilines in the liver^{1,2}. The hemolytic anemia induced by anilines is considered to be related to the oxidation of erythrocyte by N-hydroxyl anilines^{3, 4}.

- 1) Anilines are metabolized in hepatocytes by oxidases such as P450 to N-hydroxyl anilines.
- 2) N-hydroxyl anilines react with hemoglobin (HGB) in erythrocyte to produce nitrosoaniline and methaemoglobin (Met-HGB). As a result, increase of the concentration of methaemoglobin (Met-HGB) is observed in hematological examination.
- 3) Erythrocytes are degenerated (peroxidation of lipid membrane etc.) by reactive oxygen species (ROS) produced in the above reaction³.
- 4) Phagocytosis of degenerate erythrocytes mainly in the spleen results in hemolysis⁴.
- 5) As a result, decrease of red blood cell (RBC), decrease of hemoglobin (HGB), decrease of hematocrit (HTC) and increase of

OECD (Q)SAR Toolbox ver.3試用版に搭載された
本プロジェクトのカテゴリーライブラリー

- 1) Sakuratani, Y. Sato, S. Nishikawa, S. Yamada, J. Maekawa, A. and Hayashi, M. 2008. Category analysis of the substituted anilines studied in a 28-day repeat-dose toxicity test conducted on rats: Correlation between toxicity and chemical structure. SAR QSAR Environ. Res. 19:681-696.
- 2) Hayashi, M. and Sakuratani, Y. 2011. Hemolytic anemia induced by anilines and nephrotoxicity induced by 4-aminophenols. In: OECD Environment, Health and Safety Publications Series on Testing and Assessment No. 138 , Report of the Workshop on Using Mechanistic Information in Forming Chemical Categories: Annex 8.
- 3) Hayashi, M. and Sakuratani, Y. 2011. Development of an evaluation support system for estimating repeated dose toxicity of chemicals based on chemical structure. In: New Horizons in toxicity Prediction. Wilson, A. G. E. ed., Royal Society of Chemistry: Chap. 3.
- 4) 櫻谷 祐企. 2012. カテゴリーアプローチによる反復投与毒性の評価を支援する有害性評価支援システム統合プラットフォーム. 産業と環境 . (in press).
- 5) Sakuratani, Y. Zhang, H. Q. Nishikawa, S. Yamazaki, K.. Yamada, T. Yamada, J. and Hayashi, M. 2012. Categorization of nitrobenzenes for repeated dose toxicity based on adverse outcome pathways. SAR QSAR Environ. Res. (in press).
- 6) Sakuratani, Y. Zhang, H. Q. Nishikawa, S. Yamazaki, K. Yamada, T. Yamada, J. Gerova, K. Chankov, G, Mekenyan, O. and Hayashi, M. 2012. Hazard Evaluation Support System (HESS) for predicting repeated dose toxicity using toxicological categories. SAR QSAR Environ. Res. (in press).

4 HESSの運用

1. 化学物質審査規制法での利用

- リスク評価に必要なとなる判断材料の補完
- 新規化学物質の審査支援情報の提供

2. 事業者の自主的な有害性評価での利用

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

3. REACHの届出、審査での利用

- OECD (Q)SAR Toolboxへの搭載による利用の促進
(国際的に認められた評価手法を確保することにより、貿易障壁の低減に貢献する)

当機構のホームページからスタンドアロン版を無料で一般公開した(2012年6月)。

<http://www.safe.nite.go.jp/kasinn/qsar/hess.html>

表. HESS及びHESS DBの登録ユーザー数の内訳
(2012年8月31日現在)

分類	組織数(ユーザー数)	
	国内	海外
化学系企業	88(115)	10(11)
その他の企業	21(21)	9(9)
試験受託機関	8(20)	1(1)
行政機関・大学	15(18)	10(12)
個人	3(3)	6(6)
業界団体	1(3)	1(1)
合計:	136(180)	37(40)

公開した開発システムに対する、ユーザーからの問い合わせ随時受け付けている。

基本的な操作方法を習得するための講習会を定期的
に実施している(2012年7月26日、8月21日に実施。今
後年度内に更に2回程度実施予定)。

また、国内外の化学物質規制当局等での利用のため、
年2回のデータの追加(化審法既存点検データ等)を行
う予定としている。

利用目的（回答者数23人）

1. 実測試験を行う際の参考情報	9
2. 評価対象物質の安全性情報の確認	9
3. 類似物質の安全性情報の確認	13
4. 代謝情報または作用機序情報の検索	7
5. Read-acrossによる化学物質のハザード評価	13

主なご要望

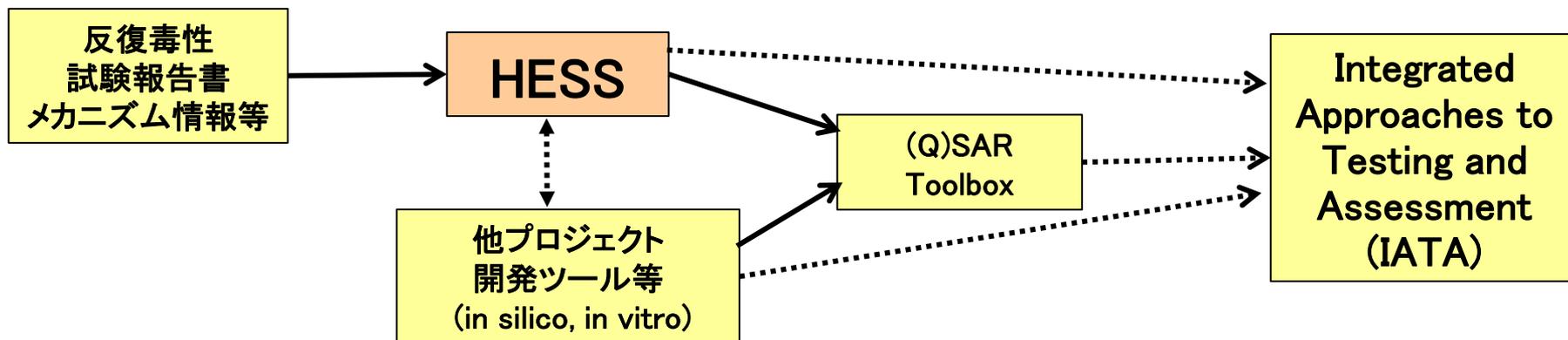
- データ数の増加（医薬品、高分子を含めて）
- 行政利用の例、カテゴリーアプローチの妥当性評価の例等の提示
- データエクスポート機能

1. 利用方法の開拓と適用範囲の拡大(システムの育成)

- 利用場面と対象物質を想定したケーススタディの拡充(化審法リスク評価、REACH届出等)。
- 化審法試験データの他に、ユーザ様からの要望に基づくデータとカテゴリーの拡張を検討。

2. 国際的な位置付けの確立

化学物質の反復投与毒性に関する*in silico*評価手法のプラットフォームとしてのHESSの国際的位置付けを確立していく。



ご清聴ありがとうございました。