

Title	DEVELOPMENT OF A NEW PREDICTING SYSTEM OF MAMMALIAN SUBACUTE TOXICITY
Author(s)	山口, 孝明
Citation	大阪大学, 1997, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/40895">https://hdl.handle.net/11094/40895</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈/a〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名	やまぐち たかあき 山 口 孝 明
博士の専攻分野の名称	博 士 (薬 学)
学 位 記 番 号	第 1 3 3 9 1 号
学 位 授 与 年 月 日	平 成 9 年 9 月 10 日
学 位 授 与 の 要 件	学 位 規 則 第 4 条 第 2 項 該 当
学 位 論 文 名	DEVELOPMENT OF A NEW PREDICTING SYSTEM OF MAM- MALIAN SUBACUTE TOXICITY (亜急性毒性予測システムに関する開発研究)
論 文 審 査 委 員	(主査) 教 授 西 原 力 (副査) 教 授 那 須 正 夫 教 授 馬 場 明 道 教 授 田 中 慶 一

### 論 文 内 容 の 要 旨

化学物質の亜急性毒性(28日間経口反復投与毒性)を単回投与による毒性試験(急性毒性試験/単括試験)の生物学的パラメータから予測するシステムの開発を試みた。

社団法人日本化学工業協会を通じて入手した56種類の一般化学物質(非類似構造物質)について毒性データの解析を行なった結果, それらの亜急性毒性のスペクトルは極めて狭く, 特異的なものであった。重要な標的およびその形態学的特徴は, 肝臓(肝細胞肥大: 肝臓の適応性変化/薬物代謝酵素誘導の反映), 腎臓(尿細管への物質沈着: 腎機能への過負荷型変化), 血液(脾臓の髓外造血亢進: 赤血球破壊型の溶血に対する反応)および胃粘膜の病変であり, これらが化学物質の生体内動態に関連した曝露臓器/組織であると考えられた。またその変化は, 特異的な生体反応を有さない「外来異物(=一般化学物質)」を排除するための生体側における一連の直接的かつ適応性の反応であると考えられた。こうした毒性学的スペクトルの特徴から, 急性的影響から亜急性的影響への過程に関連性や連続性があることが窺われた。

次いで, 急性毒性試験および反復投与毒性試験で認められた主要毒性所見の発現レベルについて, 「最小発現頻度」あるいは「10%影響レベル」について数量化し, 「生物学的パラメータ」とした。両試験の各々から可能な限り多くの化学物質を含むように2つの生物学的パラメータを選択し, 相乗平均を「合成パラメータ」として以下のように定義した。

急性毒性試験	亜急性毒性試験
$A = (BWD \times DSA)^{1/2}$	$a = (BWD \times DSA)^{1/2}$
$B = (DSA \times IRE)^{1/2}$	$b = (LIV \times KID)^{1/2}$
$C = (ATA \times IRE)^{1/2}$	$c = (BWD \times LIV)^{1/2}$
$D = (BWD \times IRE)^{1/2}$	$d = (BWD \times CHO)^{1/2}$
$E = (BWD \times ATA)^{1/2}$	$e = (LIV \times CHO)^{1/2}$

BWD: 体重増加抑制, DSA: 自発運動減少

IRE：呼吸異常，ATA：歩行異常

PER：立毛，LIV：肝臓重量増加

KID：腎臓重量増加 CHO：コレステロール増加

これらの関係式へ分配係数の対数值 (log P) を導入した以下の重相関式で高い相関係数が得られ、急性毒性試験のある所見が判明すれば、亜急性毒性試験の同一所見だけでなく全く異なる所見の発現する最小影響レベルを予測する可能性を確認した。

$$\log a = 0.51 \log A - 0.018 \log P - 0.42 \quad (n=27, s=0.58, R=0.63, F=7.86) \quad (1)$$

$$\log b = 0.75 \log B - 0.098 \log P - 0.15 \quad (n=35, s=0.41, R=0.82, F=33.7^*) \quad (2)$$

$$\log c = 1.3 \log C - 0.22 \log P - 0.24 \quad (n=25, s=0.43, R=0.87, F=35.3^*) \quad (3)$$

$$\log b = 1.1 \log C - 0.16 \log P - 0.26 \quad (n=28, s=0.44, R=0.85, F=31.3^*) \quad (4)$$

$$\log d = 1.2 \log D - 0.15 \log P - 0.45 \quad (n=24, s=0.50, R=0.85, F=26.9^*) \quad (5)$$

$$\log c = 0.74 \log A - 0.13 \log P - 0.11 \quad (n=33, s=0.51, R=0.76, F=21.1^*) \quad (6)$$

$$\log c = 1.1 \log E - 0.20 \log P - 0.27 \quad (n=27, s=0.43, R=0.86, F=33.0^*) \quad (7)$$

$$\log c = 1.1 \log D - 0.22 \log P - 0.26 \quad (n=28, s=0.44, R=0.86, F=35.4^*) \quad (8)$$

$$\log e = 0.97 \log E - 0.18 \log P - 0.31 \quad (n=27, s=0.41, R=0.83, F=27.5^*) \quad (9)$$

さらに、各相関式に急性毒性試験の生物学的パラメータを代入して各々の予測値を求め、最小値を予測無影響量 (NOEL) とする総合的な評価法を試みた。多くの解析対象物質で予測 NOEL は実測 NOEL に対して毒性試験の用量段階の公比として多用される  $\pm 10$  (約 3 ~ 10) 倍の範囲内にあった。従って、算出可能な急性毒性試験のパラメータと関係式を全て用いて算出した亜急性毒性試験の予測 NOEL から実際の反復投与時の NOEL 上限値が推定できることを明らかにした。

加えて、単回投与時に認められる影響を検討して亜急性毒性を予測するとともに、反復投与効果機序を探ることを試みた。このため実際にラットを用いて化学物質を単回投与後、経時的に亜急性毒性試験において実施される多様な毒性学的検査を行なう試験 (単拮試験) を実施した。その結果、単拮試験で得られる急性毒性所見の動きは、肝臓あるいは腎臓への影響に関して導出した急性毒性—亜急性毒性の予測式に生物学的な根拠を与えた。さらに、単拮試験の検査所見は、肝臓、腎臓および血液への影響に関して投与14日後までの生物反応を経時的に示し、亜急性毒性試験における所見を予測するのに有用であった。また、単拮試験と亜急性毒性試験の所見から、急性毒性試験で得られる生物学的パラメータ以外の肝臓、腎臓および血液 (貧血) への影響に関する所見を抽出し、「最小発現頻度」あるいは「10%影響レベル」について数量化 (生物学的新パラメータ) し、単拮—亜急性毒性間の以下の相関式を確立した。

$$\text{肝臓} : \log EL_{10}(\text{反復}) = 0.85 \log EL_{10}(\text{単回}) - 0.51 \quad (n=27, r=0.83)$$

$$\text{腎臓} : \log EL_{10}(\text{反復}) = 0.49 \log EL_{10}(\text{単回}) - 0.010 \quad (n=8, r=0.49)$$

$$\text{血液} : \log EL_{10}(\text{反復}) = 0.47 \log EL_{10}(\text{単回}) - 0.45 \quad (n=8, r=0.94)$$

上記の相関式で比較的高い相関を認めたのは、肝臓および血液に関するものであった。従って、肝臓と血液については、それぞれ単回投与3日後と14日後にこの相関式に含まれる検査項目を測定すれば、反復投与時の影響を定量的に予測することが可能であると考えられた。なお、腎臓への影響については、当該例数が少なくかつ相関性も低く、他の化学物質での検証および臓器特異性の高い検査項目の選定が必要と考えられた。

## 論文審査の結果の要旨

化学物質の安全性を評価する場合、その毒性予測は特に開発過程において非常に重要である。山口君は、多くの化学物質において低コストで実施されている急性 (単回投与) 毒性試験に着目し、亜急性 (28日間反復投与) 毒性試験との関係を解析した。その結果、10%影響量などの生物学的パラメータを組み合わせた新しい合成パラメータに加えて

水/オクタノール分配係数の対数値を用いると、両試験間に高い相関係数をもつ多くの関係式が得られ、それらにより亜急性毒性試験の最大無作用量のほぼ上限値を予測し得ることを示した。さらに、単回投与後に詳細な毒性学的検査を行う試験を代表的な6化合物について実施し、それらのデータから亜急性毒性の定性的予測のみならず、肝臓および血液系への影響については定量的予測も可能であることを示した。

これらの成果は、学術的にも高く評価されるだけでなく、化学物質のリスクアセスメント手法のひとつとして実用的にも有益であり、博士（薬学）学位論文として充分価値あるものと認められる。