

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 30 年 6 月 13 日現在

機関番号：13401

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2017

課題番号：25293148

研究課題名(和文) 感作性物質のリスト拡大と代替法による分類の確立

研究課題名(英文) Classification and alternative methods for sensitizers

研究代表者

佐藤 一博 (Sato, Kazuhiro)

福井大学・学術研究院医学系部門・准教授

研究者番号：40262620

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,300,000円

研究成果の概要(和文)：接触皮膚炎は職業性皮膚障害の中でも頻度が高い。動物福祉や時間的、コスト的な問題から in vitro試験やコンピューターを用いた定性的構造毒性相関(QSAR)モデルの代替法による評価のニーズが高まっている。

KY method (US Patent No.7725413, 2010)や1 model model KY methodを用いて動物実験(LLNA)データのみを根拠とするQSTRモデルや、感作性の強弱を判定やアラート構造の選択決定(フィルタリング)によるモデルを開発した。ドイツMAKにありわが国のJOHに無い感作性物質を根拠と共に許容濃度等委員会に提案し、感作性物質が追加された。

研究成果の概要(英文)：Contact dermatitis is by far the most common form of occupational skin illness. In silico assessment of skin sensitization is increasingly needed owing to the problems concerning animal welfare, as well as excessive time consumed and cost involved in the development and testing of new chemicals.

We made skin sensitization QSTRb model from only animal data (LLNA) by using K step Yard sampling (KY) method (US Patent No. 7725413, 2010) and 1 model KY method (US Patent Application) and performed external validation studies. We made QSTR model based on EC3 of LLNA to discriminate between strong and weak sensitizers and QSTR. Second alert constituents of the data were analyzed by filtering (selective determination). Skin sensitizers which are indexed in German MAK and are not indexed in JOH are proposed to OEL committee with review articles and approved.

研究分野：衛生学

キーワード：アレルギー・ぜんそく

### 1. 研究開始当初の背景

我国の感作性分類基準は、ヒトの症例報告・疫学研究に基づいて行われてきた。一方、化学物質の国際調和分類基準(GHS)、ドイツやヨーロッパ共同体(EU)の分類基準は動物実験結果を考慮している。我々は日本産業衛生学会許容濃度等委員会内に感作性物質分類小委員会を立ち上げ、動物実験の結果を考慮したヒトの確からしさに基づいた新感作性分類基準を作成し従来の感作性物質を再分類し暫定案として公表した。一方、EUにおけるREACH下では、年間1トン以上EUで生産または持ち込まれる全ての化学物質は、環境影響や健康影響を評価しなければならず、動物実験に代わる *in vitro* 試験やコンピューターを用いた QSAR による代替法が推奨されている。

### 2. 研究の目的

我国の感作性の専門家グループにより、根拠の確かな感作性物質リストを拡大するとともに、感作性物質をコンピューターを用いて判定する精度の高い皮膚および気道感作性定性的構造活性創刊(QSTR)ソフトを開発する。皮膚感作性 QSTR は物質数が多いため新規の K-step Yard Sampling methods (US Patent No.7725413 B2, 2010)を用いて分類する。

### 3. 研究の方法

研究代表者、研究分担者それぞれがドイツ DFG の MAK 委員会の感作性物質で日本産業衛生学会には無い物質を分担し、動物実験の結果を取り入れた新感作性分類基準で再分類し感作性小委員会で承認後、感作性物質として産衛の許容濃度等委員会に提案する。

皮膚感作性・気道感作性構造活性相関(QSAR)は、富士通九州システムズ(FJQS)と共同開発する。外的妥当性の検証を行う。物質数の多い皮膚感作性 QSAR ソフトは常に 100% 分類を達成する K-step Yard Sampling Method (US Patent No.7725413) を用いて分類する。

### 4. 研究成果

(1) NIH Publication Number 09-6439 にある 475 物質の LLNA (動物実験)のみからなる皮膚感作性構造活性相関モデルを FJQS と共同開発した。

(2) 日本産業衛生学会許容濃度等委員会感作性物質小委員会新規感作性 6 物質をその提案理由とともに親委員会に提案承認され産業衛生学会誌 2013 年 9 月号に暫定案として掲載された。

(3) 日本職業環境アレルギー学会ガイドライン作成委員会委員として職業性アレルギー疾患診療ガイドライン 2013 作成に関わり、協和企画より出版された。

(4) 日本動物実験代替法センター (JaCVAM) 皮膚感作性資料編纂委員会委員として、*in vitro* 試験である Direct Peptide Reactivity Assay (DPRA) と KeratinoSens の評価を行い AATEX-JaCVAM 誌に掲載された。

(5) ICCVAM TEST METHOD EVALUATION REPORT にある動物実験 (LLNA) データ及びコントロールを対象として KY method (US Patent No.7725413, 2010) により皮膚感作性定性的構造活性相関 (QSAR) モデルを FJQS と共同開発した。

(6) 日本職業環境アレルギー学会ガイドライン作成委員会により作成され協和企画より出版された「アレルギー疾患診療ガイドライン 2013」が *Allergology International* 誌で英文化された。

(7) JaCVAM 皮膚感作性資料編纂委員会委員として DPRA, h-CLAT の妥当性の検証及び評価を行った。これらは、AAYEX-JaCVAM 誌に掲載された。

(8) ICCVAM TEST METHOD EVALUATION REPORT にある動物実験 (LLNA) データ及びコントロールを対象として、LLNA の EC3 値に基づく感作性の強弱 (EC3 が 9.4 未満を強感作性) を判定するモデルを作成した。

(9) ICCVAM TEST METHOD EVALUATION REPORT にある動物実験 (LLNA) データ及びコントロールを対象として、陽性物質と陰性物質のアラート構造を選択決定 (フィルタリング) するモデルを作成した。

(10) JaCVAM 皮膚感作性資料編纂委員会委員として ARE-Nrf2Luciferase Method (KeratinoSens) の妥当性の検証及び評価を行った。これらは、AAYEX-JaCVAM 誌に掲載された。

### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 8 件)

Dobashi K, Akiyama K, Usami A, Ikezawa Z, Tsurukizawa N, Nakamura Y, Sato K, Okumura J, Takayama N. Japanese guidelines for occupational allergic diseases 2017. *Allergol Int* 66, 2017, 265-280.

筒井尚久, 安達玲子, 金澤由基子, 小島幸一, 佐藤一博, 武吉正博, 森本隆史. 皮膚感作性試験 human Cell Line Activation Test (h-CLAT) 評価報告書. AATEX-JaCVAM 6, 2017, 37-50.

筒井尚久, 安達玲子, 金澤由基子, 小島幸一, 佐藤一博, 武吉正博, 森本隆史.

Method角化細胞株レポーターアッセイ評価報告書. AATEX-JaCVAM 5, 2016, 1-11.

筒井尚久, 安達玲子, 金澤由基子, 小島幸一, 佐藤一博, 武吉正博, 森本隆史. 皮膚感作性試験(DPRA)ペプチド結合性試験評価報告書. AATEX-JaCVAM 4, 2015, 19-29.

佐藤一博. 職業性アレルギー疾患の予防と対策. アレルギー・免疫 22, 2015, 920-923.

釣木澤尚美, 佐藤一博, 押方智也子, 秋山一男. 職業性過敏性肺臓炎. アレルギー・免疫 21, 2014, 791-800.

佐藤一博. 職業性アレルギー疾患の予防全般および化学物質の問題. アレルギー・免疫 21, 2014, 811-814.

Dobashi K, Akiyama K, Usami A, Ikezawa Z, Tsurukizawa N, Nakamura Y, Sato K, Okumura J, Takayama N. Japanese guidelines for occupational allergic diseases 2014. Allergol Int 63, 2014, 421-441.

[学会発表](計 27 件)

佐藤一博. 感作性化学物質の分類・評価と管理について. 第 48 回日本職業環境アレルギー学会, 2017.

佐藤一博, 日下幸則. アラート構造に着目した皮膚感作性定量的構造活性相関(QSAR)モデル. 第 24 回日本免疫毒性学会, 2017.

Sato K, Kusaka Y, Ciloy JM. Skin sensitization study by quantitative structure-toxicity relationships (QSTR) approach. Eurotox 2017

佐藤一博. 感作性化学物質の分類・評価と管理について. 第 76 回日本公衆衛生学会, 2017.

Sato K, Kusaka Y, Ciloy JM. Skin sensitization studies by quantitative structure-toxicity relationships (QSTR) approach. American College of Toxicology 2017.

佐藤一博, 志呂威朴繕, 日下幸則. アラート構造による選択決定(フィルタリング)を行なった皮膚感作性定量的構造活性相関(QSAR)モデル. 第 30 回日本動物実験代替法学会, 2017.

Sato K, Ciloy JM, Kusaka Y. Skin sensitization model based on only animal data by qualitative structure-activity relationships (QSAR) approach based on EC3 of LLNA. EAACI 2016.

佐藤一博. 環境化学物質とアレルギー: 感作性化学物質の分類評価とわが国のアレルギー疾患対策. 第 47 回日本職業環境アレルギー学会, 2016.

Sato K, Ciloy JM, Kusaka Y. Skin sensitization model based on only animal data by quantitative structure-activity relationships (QSAR) approach based on EC3 of LLNA. EuroQSAR2016.

佐藤一博. 感作性化学物質の分類と評価. 第 75 回日本公衆衛生学会, 2016.

佐藤一博. 皮膚感作性定量的構造活性相関モデル. 第 29 回日本動物実験代替法学会, 2016.

Sato K, Yuta K, Kusaka Y. Skin sensitization model based on only animal data by qualitative structure-toxicity relationships (QSTR) approach. ICOH 2015.

Sato K, Yuta K, Ciloy JM, Kusaka Y. Skin sensitization model by quantitative structure-toxicity relationships (QSTR) approach. Eurotox2015.

Sato K, Yuta K, Ciloy JM, Kusaka Y. Skin sensitization model by quantitative structure-toxicity relationships (QSTR) approach. ACT 2015.

佐藤一博, 湯田浩太郎, 志呂威朴繕, 日下幸則. LLNA の EC3 値に着目した皮膚感作性定量的構造活性相関(QSAR)モデル. 第 22 回日本免疫毒性学会, 2015.

Sato K, Yuta K, Kusaka Y. Skin sensitization study from only animal data by quantitative structure-activity relationships (QSAR) approach. EuroQSAR2014.

佐藤一博, 日下幸則, 湯田浩太郎. 動物実験(LLNA)のみから作性した皮膚感作性定性的構造活性相関(QSTR)モデル. 第 21 回日本免疫毒性学会, 2014.

Sato K, Yuta K, Kusaka Y. Skin sensitization model based on only animal data by quantitative structure-toxicity relationships (QSTR) approach. ESID 2014.

佐藤一博. 産業界における代替法の重要性 特に皮膚感作性について. CBI 学会計算毒性学研究会キックオフミーティング 2014.

佐藤一博, 日下幸則, 湯田浩太郎. 定性的構造毒性相関(QSTR)に基づいた皮膚感作性物質の予測. 第 44 回日本皮膚アレルギー接触皮膚炎学会.

① 佐藤一博, 湯田浩太郎, 日下幸則. 動物実験(LLNA)データのみから作成した定性的構造毒性相関(QSTR)モデル. 第 27 回日本動物実験代替法学会, 2014.

② 釣木澤尚美, 押方智也子, 佐藤一博. 職業性過敏性肺臓炎. 第 44 回日本職業環境アレルギー学会, 2013.

- ⑳ 佐藤一博, 日下幸則, 湯田浩太郎. 定性的構造毒性相関(QSTR)に基づいた皮膚感作性化学物質の予測. 第 20 回日本免疫毒性学会, 2013.
- ㉑ 金澤由基子, 安達玲子, 小島幸一, 筒井尚久, 佐藤一博, 森本隆史, 武吉正博, 牧栄二, 小島 肇. In vitro 皮膚感作性試験代替法: KertinoSens Assay の JaCVAM 第三者評価委員会における検証状況. 第 20 回日本免疫毒性学会, 2013.
- ㉒ 武吉正博, 佐藤一博, 森本隆史, 筒井尚久, 安達玲子, 金澤由基子, 小島幸一, 牧栄二, 小島 肇. In vitro 皮膚感作性試験代替法: Direct Peptide Reactive Assay (DPRA)の第三者評価委員会における検証状況. 第 20 回日本免疫毒性学会, 2013.
- ㉓ 佐藤一博, 湯田浩太郎, 日下幸則. 動物実験(LLNA)データのみから作成した皮膚感作性定性的構造毒性相関(QSTR)モデル. 第 26 回日本動物実験代替法学会, 2013.
- ㉔ Sato K, Kusaka Y, Yuta K. Skin sensitization study by a new qualitative structure-toxicity relationships (QSTR) approach: K-step Yard Sampling (KY) methods. Eurotox 2013.

〔図書〕(計 5 件)

佐藤一博(オムニバス形式)技術情報協会, 皮膚の安全性・有用性評価法. 第 4 章皮膚の安全性・毒性評価におけるインシリコの活用. 第 1 節 in vitro/in silico における化学物質, 化粧品原料の安全性予測. pp141-145, 2018.

佐藤一博(オムニバス形式)技術情報協会, 皮膚の安全性・有用性評価法. 第 4 章皮膚の安全性・毒性評価におけるインシリコの活用. 第 2 節皮膚感作性 QSAR ソフト. pp146-150, 2018.

Sato K et al. Springer. Allergy and immunotoxicology in occupational health. pp93-102, 2017.

職業性アレルギー疾患診療ガイドライン作性委員会. 協和企画, 職業性アレルギー疾患診療ガイドライン 2016, 2016.

職業性アレルギー疾患診療ガイドライン作性委員会. 協和企画, 職業性アレルギー疾患診療ガイドライン 2013, 2013

6. 研究組織

(1)研究代表者

佐藤 一博 (SATO, Kazuhiro)  
福井大学・学術研究院医学系部門・准教授  
研究者番号: 40262620

(2)研究分担者

中平 浩人 (NAKADAIRA Hiroto)

新潟青陵大学・看護学部・教授  
研究者番号: 40217758

亀尾聡美 (KAMEO Satomi)  
群馬大学・大学院医学系研究科・助教  
研究者番号: 40312558

中地重晴 (NAKACHI Shigeharu)  
熊本学園大学・社会福祉学部・教授  
研究者番号: 50586849

金山ひとみ (KANAYAMA Hitomi)  
福井大学・学術研究院医学系部門・助教  
研究者番号: 60377249

青山公治 (AOYAMA Kohji)  
鹿児島大学・歯学領域医学系・講師  
研究者番号: 70116472 (平成 28 年まで)

日下幸則 (KUSAKA Yukinori)  
福井大学・学術研究院医学系部門・教授  
研究者番号: 70135680

吉田貴彦 (YOSGIDA Takahiko)  
旭川医科大学・医学部・教授  
研究者番号: 90200998

土橋邦生 (DOBASHI Kunio)  
群馬大学・大学院保健学研究科・教授  
研究者番号: 00241894

皆本景子 (MINAMOTO Keiko)  
熊本大学・医学部・大学院生命科学研究所(医)・助教  
研究者番号: 00381012

稲寺秀邦 (INADERA Hidekuni)  
富山大学・大学院医学薬学研究部(医学)・教授  
研究者番号: 10301144

梅村朋弘 (MEMURA Tomohiro)  
愛知医科大学・医学部・講師  
研究者番号: 10401960

竹下達也 (TAKESHITA Tatsuya)  
和歌山県立医科大学・医学部・教授  
研究者番号: 20150310

大槻剛己 (OHTSUKI Takemi)  
川崎医科大学・医学部・教授  
研究者番号: 40160551

柴田英治 (SHIBATA Eiji)  
愛知医科大学・医学部・教授  
研究者番号: 90206128

福島哲仁 (FUKUSHIMA Tetsuhito)  
福島県立医科大学・医学部・教授  
研究者番号：90208942

田村太朗 (TAMURA Taro)  
福井大学・学術研究院医学系部門・助教  
研究者番号：90509291