

OECD AOPプロジェクトと免疫毒性AOP 作成の試み

日本免疫毒性学会試験法委員会
あすか製薬(株)創薬研究本部
久田 茂

- 化学物質による有害事象発生とAOP
- OECDによるAOPプロジェクト (AOP Programme)
- カルシニューリン阻害による免疫抑制に関するAOP作成の事例
- まとめ

□化学物質による有害事象発生とAOP

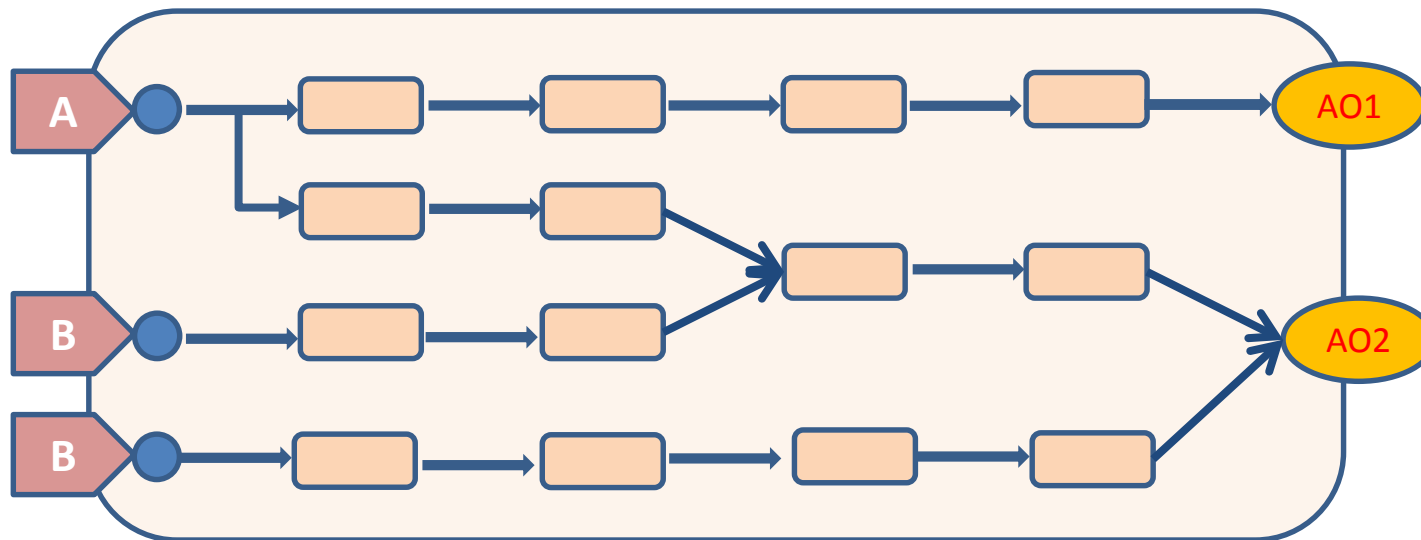
□OECDによるAOPプロジェクト (AOP Programme)

□カルシニューリン阻害による免疫抑制に関するAOP作成の事例

□まとめ

化学物質による有害作用発現

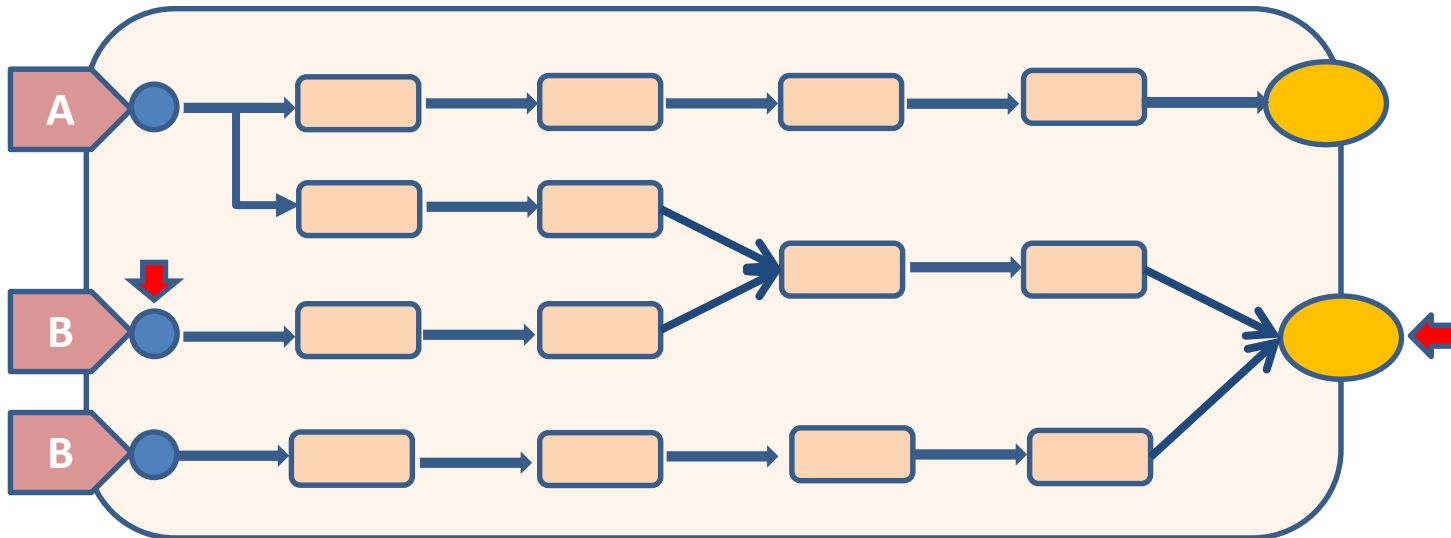
- 化学物質による有害事象は、これが生体分子に作用して、細胞レベル、組織レベルで様々な事象が発生して、生体の恒常性が攪乱され、場合によっては細胞死や細胞増殖を介して、個体レベルでの有害事象の発生にいたり、最終的には生物集団に影響する。有害化学物質は、通常複数の分子に作用して、様々な機序により複数の有害事象を発症させる



化学物質A、B

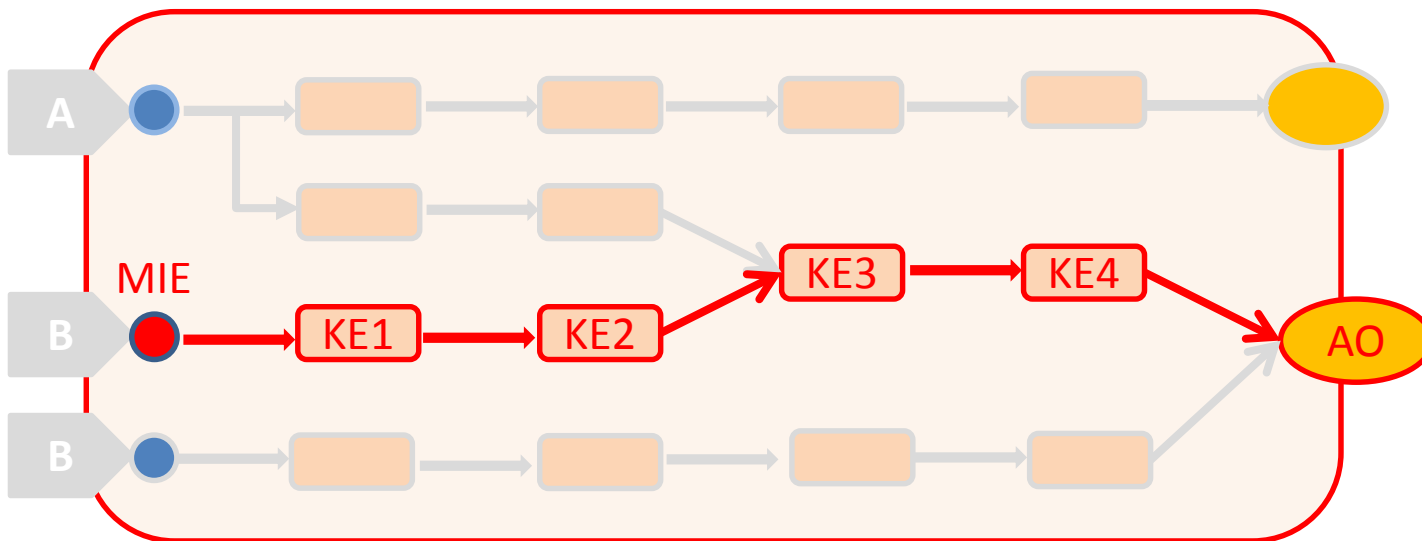
AOP (1)

- 一つの標的分子への作用 (Molecular Initiating Event, MIE) と一つの有害事象 (Adverse Outcome, AO) に着目
- 生体の各レベルにおいて定量が可能な重要な事象 (Key Event, KE) を抽出して MIE から AO に至る一連の経路とし、各 KE 間の関係 (Key Event Relationship, KER) の確かさを示したのが、Adverse Outcome Pathway (AOP)
- AOP に関与する化学物質の情報は含まない。
- MIE に作用する化学物質を関連させることにより、関連する AOP は当該化学物質による有害事象発現に関する Mode of Action (MOA) となる。



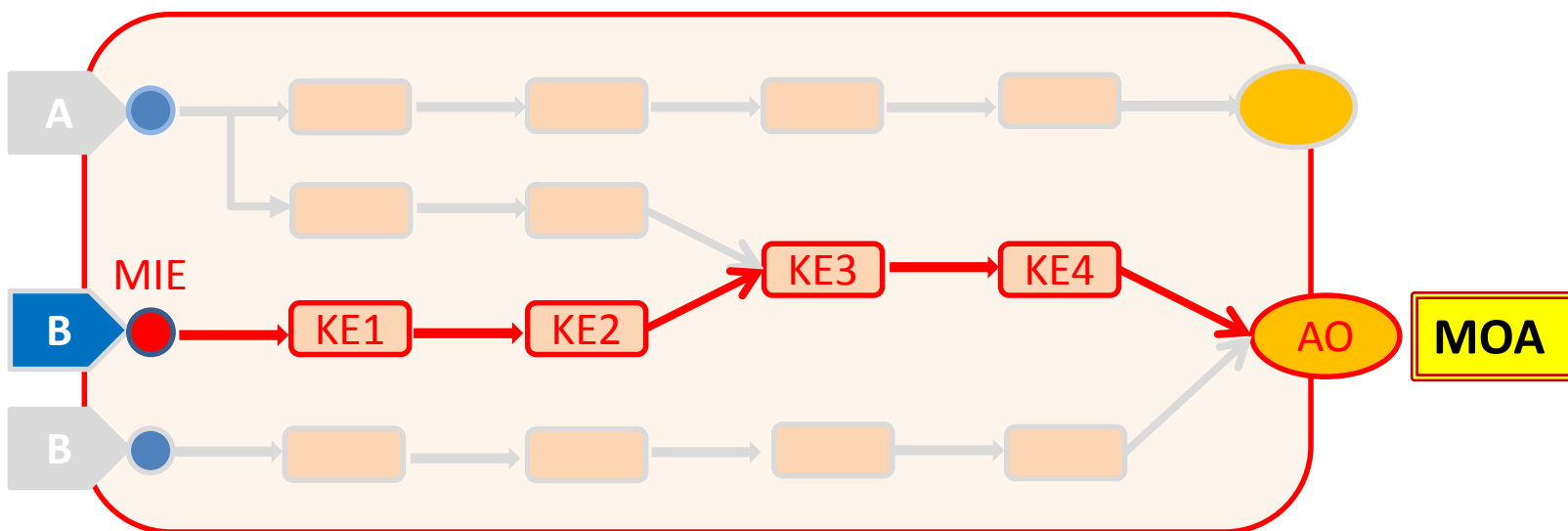
AOP (2)

- 一つの標的分子への作用 (Molecular Initiating Event, MIE) と一つの有害事象 (Adverse Outcome, AO) に着目
- 生体の各レベルにおいて定量が可能な重要な事象 (Key Event, KE) を抽出して MIE から AO に至る一連の経路とし、各 KE 間の関係 (Key Event Relationship, KER) の確かさを示したのが、Adverse Outcome Pathway (AOP)
- AOP に関与する化学物質の情報は含まない。
- MIE に作用する化学物質を関連させることにより、関連する AOP は当該化学物質による有害事象発現に関する Mode of Action (MOA) となる。

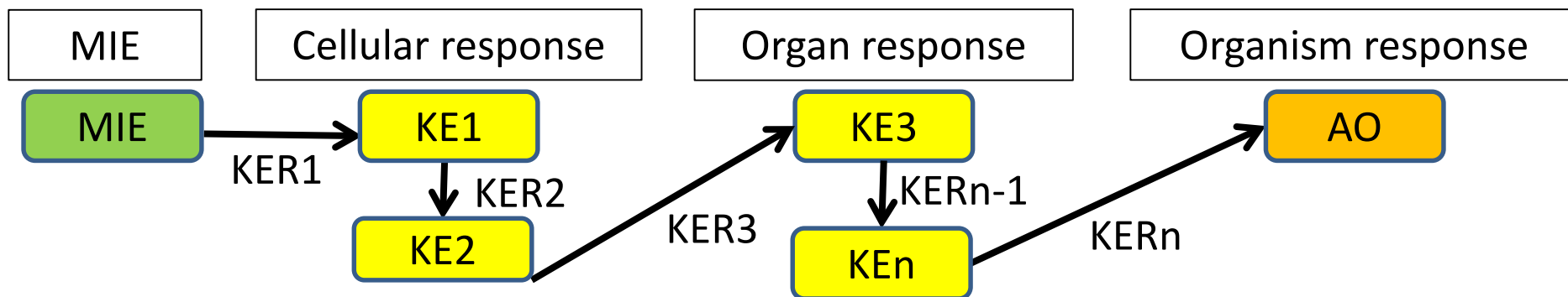


AOPとMOA

- 一つの標的分子への作用 (Molecular Initiating Event, MIE) と一つの有害事象 (Adverse Outcome, AO) に着目
- 生体の各レベルにおいて定量が可能な重要な事象 (Key Event, KE) を抽出して MIE から AO に至る一連の経路とし、各 KE 間の関係 (Key Event Relationship, KER) の確かさを示したのが、Adverse Outcome Pathway (AOP)
- AOP に関与する化学物質の情報は含まない。
- MIE に作用する化学物質を関連させることにより、関連する AOP は当該化学物質による有害事象発現に関する Mode of Action (MOA) となる。



AOPの構成(1)



- KE
 - 測定可能な一般的な生物現象として記載
 - 測定法とその確かさ
 - 動物分類への適用
- AO
 - KEの一つ、規制上有用な有害作用
 - 測定、観察が可能

AOPの構成(2)

- KER
 - 前後のKE ($KE_{up} \rightarrow KE_{down}$) の関係を詳細に記載
 - Weight of evidenceの記載
 - Biological plausibility
 - 現在の生物学的理解と一致しているか
 - Empirical support
 - KE間の用量、発生順序、頻度差に矛盾がないか
 - Uncertainties or inconsistency
 - 上流、下流のKE間の関係に不確かさが無いか
 - Quantitative understanding
 - KE間の関係を定量的に示しているか
 - 相互関係、反応間の関係、閾値の相違等

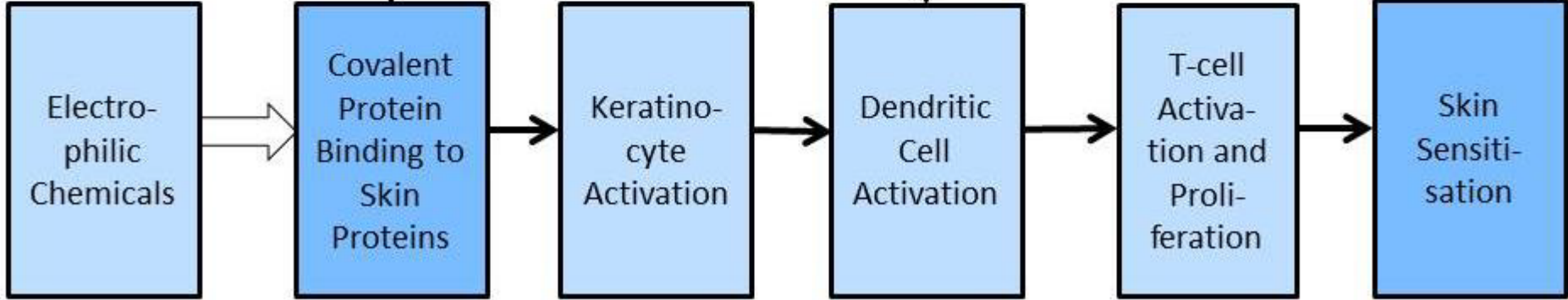
Chemical Structure/
Properties

MIE

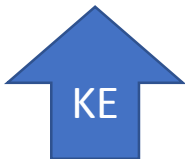
Cellular Level

Tissue Level

Organ Level



KER



KER

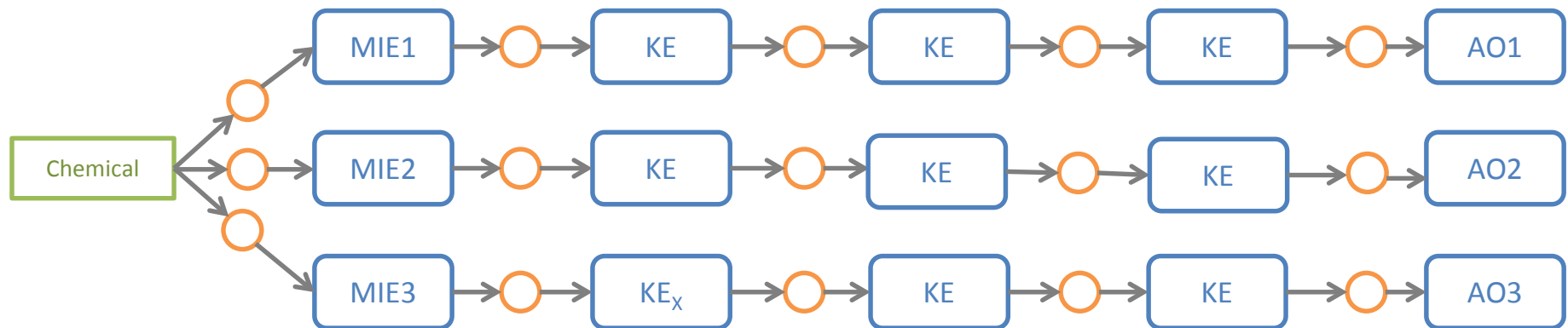


KER



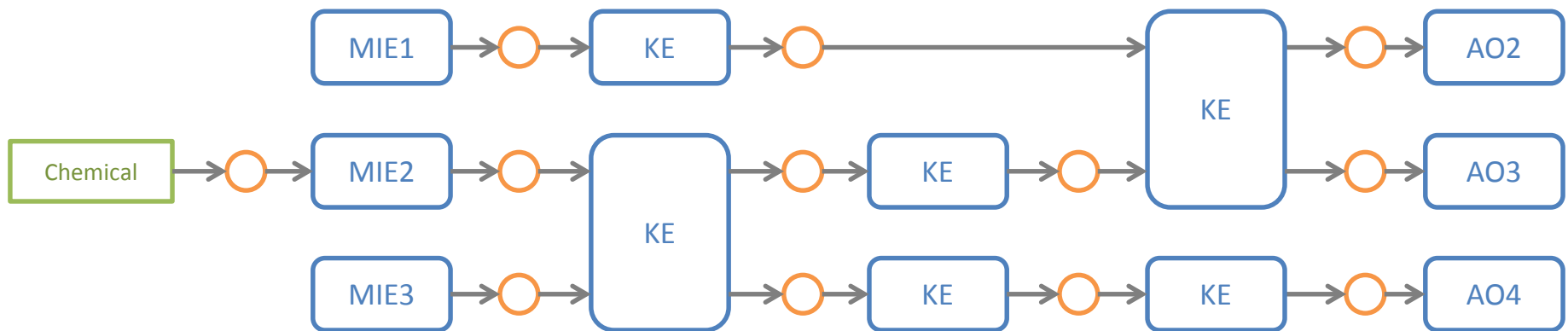
AOP Network(1)

- AOPは定量可能な生物応答で構成したモジュール
- 生体内で発生する有害事象は、関連するAOPの集合として理解することができる。
- その中で、共有されるKEやKERを介したAOPのネットワークを見いだすことができる。
- このようなAOPネットワークを利用することにより、有害作用の予測のためのin vitro試験法の選定やその根拠を得ること、有害性発現機序(MOA)の理解に役立つことなどが期待される。



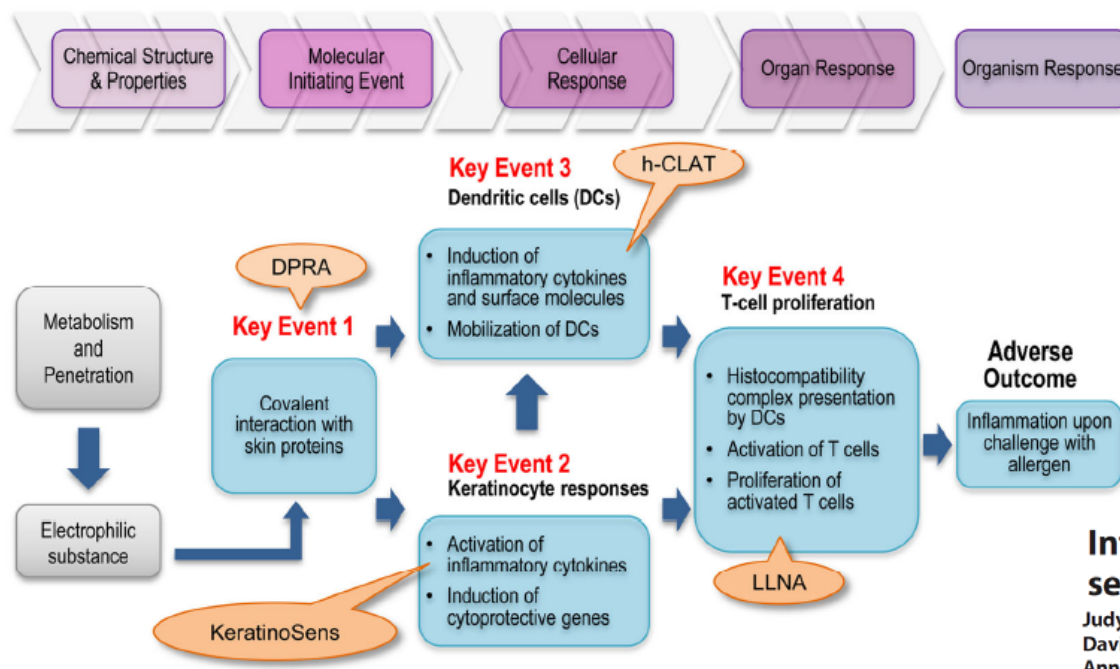
AOP Network(2)

- AOPは定量可能な生物応答で構成したモジュール
- 生体内で発生する有害事象は、関連するAOPの集合として理解することができる。
- その中で、共有されるKEやKERを介したAOPのネットワークを見いだすことができる。
- このようなAOPネットワークを利用することにより、有害作用の予測のためのin vitro試験法の選定やその根拠を得ること、有害性発現機序(MOA)の理解に役立つことなどが期待される。



AOPとIATA

- 最終的には、in silico、in vitro等の複数の試験法を組み合わせ、総合的に毒性を評価する手法であるIATA (integrated approaches to testing and assessment) の作成に有用な知見を得ることが期待される。



J. Appl. Toxicol. 2016

Integrated decision strategies for skin sensitization hazard

Judy Strickland^a, Qingda Zang^a, Nicole Kleinstreuer^a, Michael Paris^a, David M. Lehmann^b, Neepa Choksi^a, Joanna Matheson^c, Abigail Jacobs^d, Anna Lowit^e, David Allen^a and Warren Casey^{f*}

Figure 1. Adverse outcome pathway for skin sensitization initiated by covalent binding to proteins. DPRA, direct peptide reactivity assay; h-CLAT, human cell line activation test; LLNA, murine local lymph node assay. Note: Although KeratinoSens, h-CLAT and LLNA are aligned with single key events, these assays also recapitulate the prior key events.

- 化学物質による有害事象発生とAOP
- OECDによるAOPプロジェクト (AOP Programme)
- カルシニューリン阻害による免疫抑制に関するAOP作成の事例
- まとめ

OECD AOP Programme

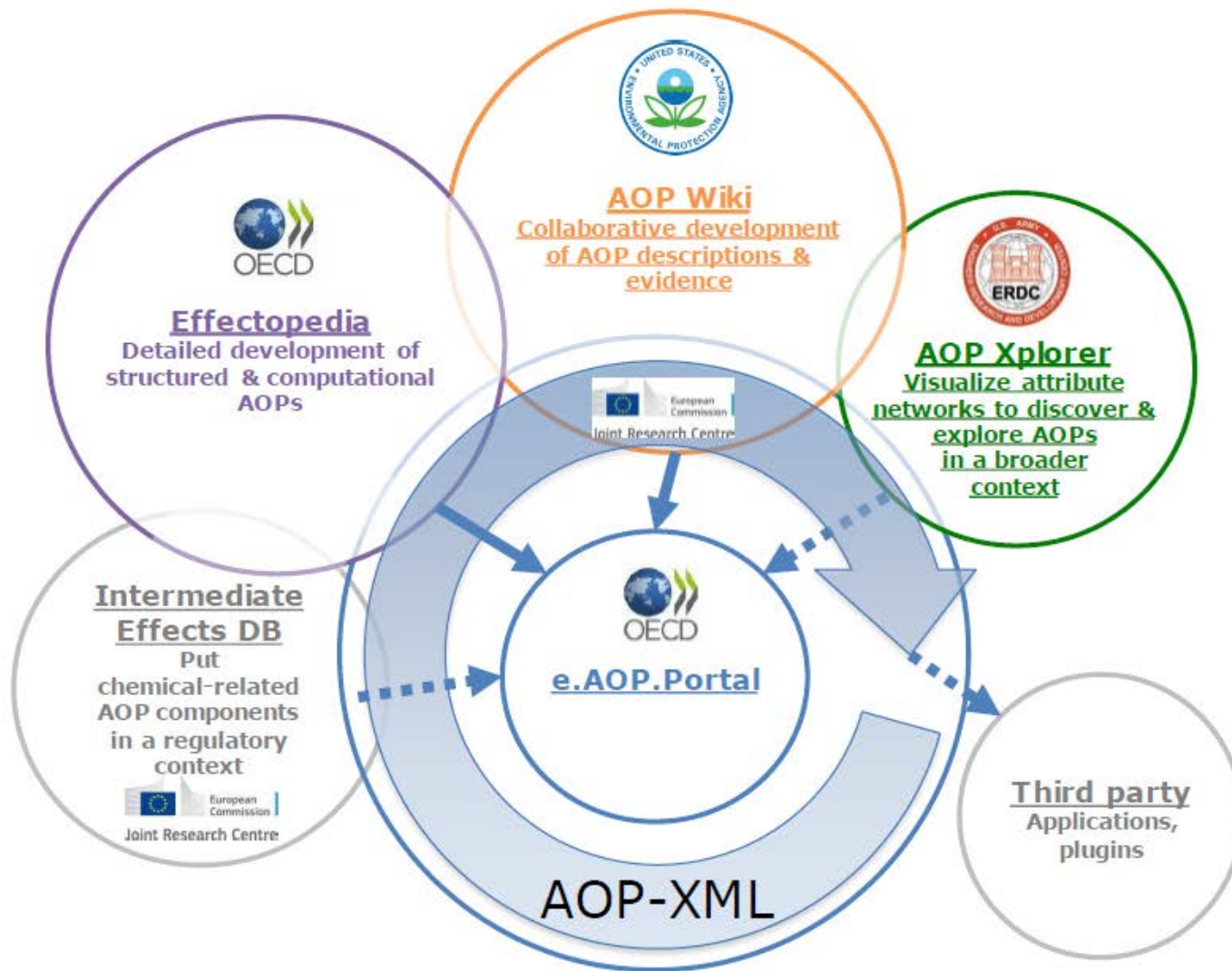
- 様々な有害事象に関するAOPを作成してデータベースを構築するAOPプロジェクト(AOP Programme)がOECDにより2012年から進められている。
- AOPは、OECDの専用サイト(AOP Wiki: https://aopwiki.org/wiki/index.php/Main_Page)に登録されて公開され、OECDによる内部レビュー、さらにその後に外部レビューを受けることになる。
- すでに156件のAOPがAOP Wikiに登録され、その中で、OECDによるレビューの段階にあるものが24件となっている。
- 本邦では、日本動物実験代替法評価センター(JaCVAM)がOECD AOPプロジェクトに参加し、厚労科研費による研究班(厚生労働科学研究費補助金(化学物質リスク研究事業): AOPおよびIATAに立脚した国際的な安全性評価手法の確立(H27-化学-指定-003))が組織されており、日本からは免疫毒性のAOPを含めて、現在5件のAOPがAOP Wikiに登録されている。

Process of AOP development at OECD

Basically, the process comprises 5 steps:

1. Project proposal for development of an AOP
2. OECD/EAGMST review: if positive, proposal included in AOP work plan
3. Developed AOP entered into AOP Knowledge Base (AOP-KB)
4. Thorough review of AOP (expert committee, OECD/EAGMST, OECD/TFHA, OECD/WNT)
5. AOP endorsed published in OECD Series on Adverse Outcome Pathways

The AOP-KB modules



AOP projects by Endpoints

	Hazard	No. of projects
Health Hazards	Sensitization	2
	Genotoxicity	2
	Carcinogenicity	30
	Reproductive Toxicity	29
	Developmental toxicity	13
	Liver toxicity	11
	Neurotoxicity	8
	Hematotoxicity	1
	Immunotoxicity	2
	Renal toxicity	4
	Respiratory toxicity	3
	Cardiovascular toxicity	3
	Other Health Hazards	47
Percellome toxicogenomics approach for AOP building AOP building		1
AOP Handbook		1

PROJECTS COMPLETED in 2016

Project 1.1	The Adverse Outcome Pathways for Skin Sensitisation Initiated by Covalent Binding to Proteins.
Project 3.2	Glossary of the Terminology Associated with Adverse Outcome Pathways.
Project 1.14	The Adverse Outcome Pathway from protein alkylation to liver fibrosis.
Project 1.22	The Adverse Outcome Pathway from Binding of Antagonists to NMDAR During Brain Development (Synaptogenesis) Induces Impairment of Learning and Memory Abilities.
Project 1.23	The Adverse Outcome Pathway from Binding of Agonists to NMDAR in Adult Brain Causes Excitotoxicity that Mediates Neuronal Cell Death, Contributing to Reduction of Cognitive Function.
Project 5.1	In vitro test method development strategy for the OECD Skin Sensitisation AOP.

AOPs proposed by Japanese colleagues

Project No.	AOP
Project 2.5	Percellome Toxicogenomics Approach for AOP Building: Case study on Pentachlorophenol
Project 2.6	Immunosuppression initiated by metal
Project 1.36	The Adverse Outcome Pathway of cytotoxicity leading to nasal tumors
Project 1.38	The Adverse Outcome Pathway on binding of FK506-binding protein 12 (FKBP12) by calcineurin inhibitors leading to immunosuppression
Project 1.46	The Adverse Outcome Pathway on Hand1 gene dysregulation leading to embryotoxicity
Project 1.48	The Adverse Outcome Pathway on Dysregulation of IL-2 transcription leading to immunotoxicity
Project 1.49	The Adverse Outcome Pathway on ROS induces phototoxic reactions
Project 1.52	The Adverse Outcome Pathway on Histone deacetylase inhibition leading to testicular toxicity

発表内容

- 化学物質による有害事象発生とAOP
- OECDによるAOPプロジェクト (AOP Programme)
- **カルシニューリン阻害による免疫抑制に関するAOP作成の事例**
- まとめ

KERの要件

- Weight of evidence
 - Biological plausibility
 - 現在の生物学的理解と一致しているか
 - Empirical support
 - KE間の用量、発生順序、頻度差に矛盾がないか
 - Uncertainties or inconsistency
 - 上流、下流のKE間の関係に不確かさが無いか
- Quantitative understanding
 - KE間の関係を定量的に示しているか
 - 相互関係、反応間の関係、閾値の相違等

AOPの評価

- Define domain of applicability of the AOP
 - 適用範囲: 性、年齢、種等
- Assess relative level of confidence (weight of evidence) in the AOP on rank ordered elements and quantitation
 - Biological plausibility of each of the KERs
 - 現在の生物学的理解と一致しているか?
 - Essentiality of each of the KERs in the AOP
 - 先行KEがなくなれば影響は消失するか?
 - Empirical support for each of the KERs and the overall AOP
 - KE間の用量、発生順序、頻度差に矛盾がないか
- Degree of quantitative understanding for each KER
 - KE間の関係を定量的に示しているか
 - 相互関係、反応間の関係、閾値の相違等

- 化学物質による有害事象発生とAOP
- OECDによるAOPプロジェクト (AOP Programme)
- カルシニューリン阻害による免疫抑制に関するAOP作成の事例
- まとめ

謝辞 (順不同, 敬称略)

国立医薬品食品衛生研究所

小島 肇

日本免疫毒性学会 試験法委員会 AOP検討小委員会(旧委員)

串間清司、小松 弘幸、大石 巧、後藤 玄、杉本 潤一郎、伊藤 志保、
大坪 靖治

日本免疫毒性学会 試験法委員会 (旧委員)

小坂忠司、井上 智彰, 小島 幸一, 筒井 尚久, 手島 玲子, 牧 栄二