

2024-11-27

平成16年度

日本産業衛生学会東海地方会学会

講演集

日時 平成16年11月27日(土)10:00~16:15  
会場 静岡県男女共同参画センター あざれあ  
学会長 斎藤 俊二(東海検診センター)  
共催 静岡県医師会、静岡産業保健推進センター

日本産業衛生学会東海地方会

## クラスター分析を用いた実験動物による毒性評価の試み

○小林克己<sup>1</sup>, 中村晴信<sup>2</sup>, 竹内宏一<sup>2,3</sup>

<sup>1</sup>財団法人 食品農医薬品安全性評価センター

<sup>2</sup>浜松医科大学公衆衛生学講座

<sup>3</sup>財団法人 静岡県予防医学協会

### 【はじめに】

イヌおよびげっ歯類を用いた反復投与毒性試験から得られるデータ項目は、臨床観察所見、体重・飼料摂取量および血液の測定値、尿検査値および病理解剖・組織所見などの定性値および定量値など多岐にわたる。試験責任者は、各用量投与群と対照群の測定値を比較検討して無毒性量および中毒量を決定する。これらの判断に際して統計学的解析法が利用されている。しかし、多項目の検査値から無毒性量を把握することはなかなか労力が大きい。そこで今回、試験責任者がまず始めに終了した試験全体を眺めて無毒性量および毒性量が採れたか否か判断する手法を検索した。クラスター分析は幾つかのデータを持ち寄り相互の類似度によって、近いもの同士をお互いに結び、幾つかの集団に分ける。すなわち、異なる性質のもの同士が混ざり合っている集団の中から、互いに似たものを集めて集落を作り、対象を分類しようという方法を総称したものであり、数値分類法とも呼ばれる手法であるが、今回多くの調査項目を分類して幾つかのグループに判別できるクラスター分析について検討した。

### 【材料および方法】

雄の C<sub>57</sub>: CD(SD)系ラットを各群 10 匹として対照群、低用量群、中用量群、高用量群および最高用量群に分類した。対照群を除く各群のラットに各群に対応する用量を 4 週間反復経口投与し、その毒性を検討した。投与期間中に一般状態の観察、体重、摂餌量および摂水量の測定を行い、投与終了時に臨床検査、器官重量測定および病理学的検査を実施した。

クラスター分析は、SAS 社の JMP (Version 5) を用い、全測定項目中、対照群に対して 5%水準で有意差を認めた 40 項目のみ行う場合 (クラスター分析 (1)) と、有意差は関係なくほぼ全測定 88 項目に対して行う場合 (クラスター分析 (2)) の二通りの方法を施行した。

### 【結果】

被験物質の反復経口投与により得られた主な変化として、高用量群以上で流涎、ALP の高値、前胃の扁平上皮増生および糜爛、最高用量群でよろめき歩行、軽度の体重増加抑制、軽度の貧血傾向、アルブミンの低値、骨折、肝臓の類洞細胞の活性化および髄外造血が認められた。

次に、対照群に対して 5%水準で有意差の付いた 40 項目を分析したクラスター分析 (1) の結果は表 1 および図 1 に示した。

表 1. 対照群に対して 5%水準で有意差を示した 40 項目のクラスター分析(1)

群	該当動物数		
	グループ 1		グループ 2
	サブグループ-1	サブグループ-2	
対照	10	0	0
低用量	10	0	0
中用量	10	0	0
高用量	2	8	0
最高用量	0	4	6

クラスターは大きく 2 つに分かれた。グループ 1 は更に 2 つのサブグループに分けられた。従って、サブグループを含めて 3 つの群に分けられた。サブグループ 1 に高用量群の 2 匹が分けられた。

有意差は関係なくほぼ全測定項目の 88 項目を分析したクラスター分析 (2) の結果は表 2 および図 2 に示した。クラスターは大きく 2 つに分かれた。各々 2 つのサブグループを示した。高用量群は、5 匹と 0 匹がグループ 2 のサブグループにそれぞれ分かれた。

表 2. 有意差は関係なくほぼ全測定項目の 88 項目のクラスター分析(2)

群	該当動物数			
	グループ 1		グループ 2	
	サブグループ-1	サブグループ-2	サブグループ-1	サブグループ-2
対照	8	2	0	0
低用量	6	4	0	0
中用量	7	3	0	0
高用量	5	0	5	0
最高用量	0	0	5	5

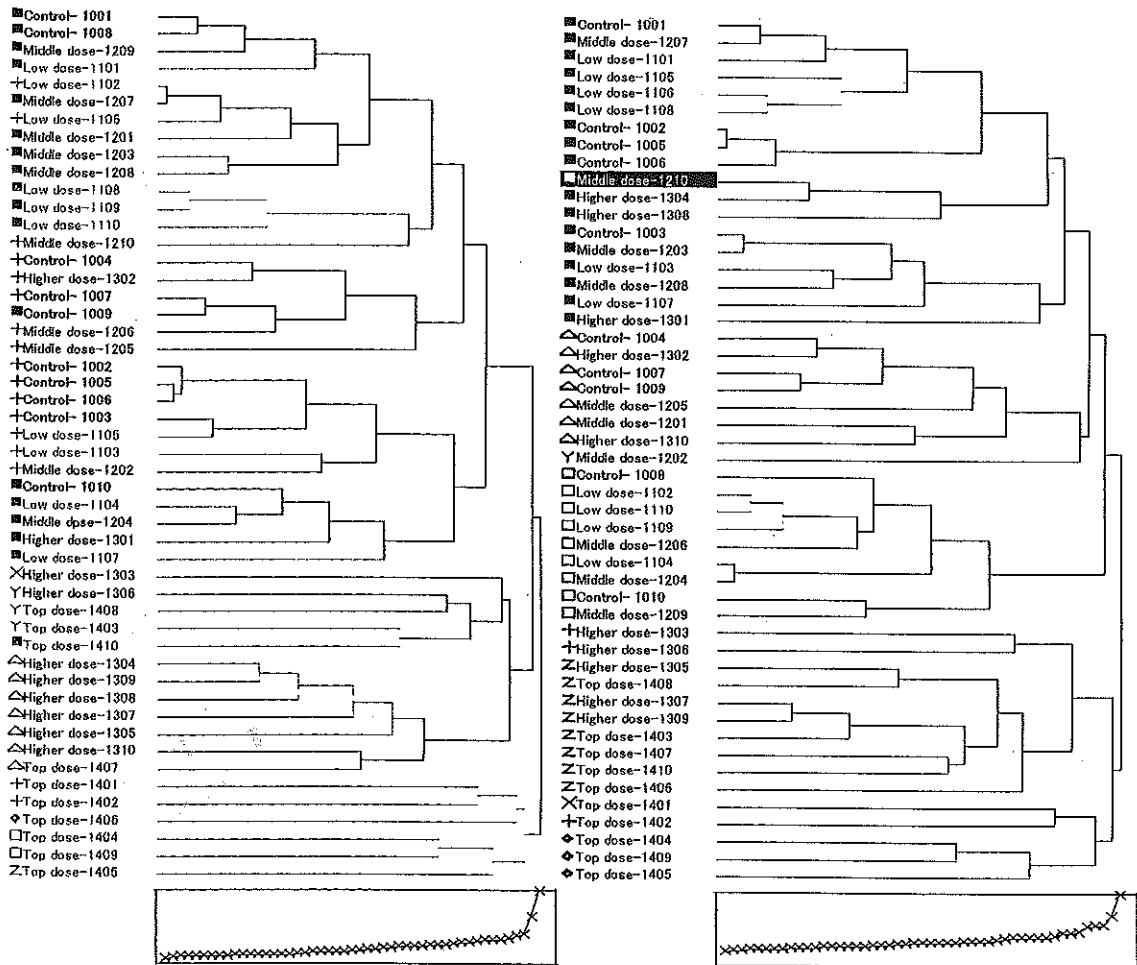


図 1. 5%水準で有意差を示した 40 項目の分析 図 2. 有意差は関係なく全項目の 88 項目の分析  
【まとめ】

短期反復投与試験のデータを用いてクラスター分析によって毒性量および無毒性量を視覚的に判断できないか検討した。被験物質の反復経口投与により得られた各項目に対する従来の解析結果では、高用量以上で何らかの変化が出現していたことから、中用量群が無毒性量と推測された。クラスター分析 (1) においては、対照、低用量および中用量群がほぼ同じクラスターに分類され、無毒性量は中用量群以下と推測され、クラスター分析 (2) においては、無毒性量が中用量群または高用量群と推測できた。以上の結果より、対照群に対して有意差を示した項目についてのみクラスター分析を実施した方が全項目を解析するのに比較して毒性量をより把握できることが示された。病理解剖、組織所見および尿検査などの定性所見等もスコア一化した数値であればクラスター分析に適用できることから、試験責任者は、試験終了後、対照群に対して全測定項目の中から 5%水準で有意差が認められた項目に対してクラスター分析をすることによって視覚的に、且つ簡便に毒性量の把握ができることが示唆された。