

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

井上 達. 内分泌攪乱化学物質の低用量作用と毒性学のあたらしい課題. 科学(岩波書店) 79, 1022-1028, 2009.

Inoue T, and Hirabayashi, Y.: Hematopoietic neoplastic diseases develop in C3H/He and C57BL/6 mice after benzene exposure: Strain differences in bone marrow tissue responses observed using microarrays. *Chem Biol Interact*, (Doi: 10.1016/j.cbi.2009.12.005), 2010.

Kawasaki Y, Hirabayashi Y, Kaneko T, Kanno J, Kodama Y, Matsushima Y, Ogawa Y, Saitoh M, Sekita K, Uchida O, Umemura T, Yoon BI, and **Inoue T**. Benzene-induced hematopoietic neoplasms including myeloid leukemia in Trp53- deficient C57BL/6 and C3H/He mice. *Toxicol Sci* 110, 293-306, 2009.

Hirabayashi H, **Inoue T**.: Benzene-induced bone-marrow toxicity: A hematopoietic stem-cell-specific, aryl hydrocarbon receptor- mediated adverse effect. *Chem Biol Interact* (2010) (Doi:10.1016/j.cbi.2009.10.12.1022).

Yi JY, Hirabayashi Y, Choi YK, Kodama Y, Kanno J, Han J., **Inoue T**, and Yoon BI. Benzene activates caspase-4 and -12 at the transcription level, without an association with apoptosis, in mouse bone marrow cells

lacking the p53 gene. *Arch Toxicol* 83, 795-803, 2009.

Hirabayashi T, and **Inoue T**. Aryl hydrocarbon receptor biology and xenobiotic responses in hematopoietic progenitor cells. *Biochem Pharmacol* 77, 521-535, 2009.

2. 学会発表

Inoue T, Kawasaki Y, Hirabayashi Y, Yoon BI, Kodama Y, Uchida O, Umemura T, Matsushima Y, Saitoh M, Sekita K, Kanno J, Kaneko T: Benzene-inhalation enhanced the incidence of hematopoietic neoplasms in p53-deficient mice with respect to strain-differences between C57BL/6 and C3H/He. Society of Toxicology 48th Annual Meeting & ToxExpo (2009.3.18).

Inoue T, Kaneko T, Kanno J, Sekita K, Yoon BI, Hirabayashi Y. Benzene-induced hematopoietic neoplasms developed in C3H/He and C57BL/6 mice: Differences observed using microarrays. 第32回日本分子生物学会年会(2009.12.09)

井上 達、尹 秉一、金子豊蔵、児玉幸夫、菅野 純、平林容子:C57BL/6 および C3H/He 2 系統の p53 欠失マウスを用いたベンゼン吸引性造血器腫瘍発症の系統差に関する要因解析. 第 98 回日本病理学会総会(2009.5.3)京都.

H. 知的財産所有権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

ⁱ European Commission: European Workshop on the Impact of Endocrine Disruptors on Human Health and Wildlife. Report of Proceedings. 2-4 December 1996, Weybridge, U.K.

ⁱⁱ R. Carson: *Silent Spring*, Houghton Mifflin, Boston, 1962.

ⁱⁱⁱ Melnick, R, G Lucier, M Wolfe, R Hall, G Stancel, G Prins, M Gallo, K Reuhl, S-M Ho, T Brown, J Moore, J Leakey, J Haseman, M Kohn. Summary of the National Toxicology Program report of the endocrine disruptors low-dose peer review. *Environ Hlth Perspect* 110(4): 427-431,

-
2002. http://www.epa.gov/ncer/rfa/2004/2004_low_dose.html.
- iv Tyl RW, Myers CB, Melissa C, Marr MC, Sloan CS, Castillo NP, Veselica MM, Seely JC, Dimond SS, Van Miller JP, Shiotsuka RS, Stropp GD, Waechter Jr. JM, Hentges SG. Two-generation reproductive toxicity evaluation of dietary 17 β -estradiol (E2; CAS No. 50-28-2) in CD-1 (Swiss) mice. *Toxicol Sci* 102: 392-412, 2008.
- v Tyl RW, Myers CB, Marr MC, Thomas BF, Keimowitz AR, Brine DR, Veselica MM, Fail PA, Chang TY, Seely JC, Joiner RL, Butala JH, Dimond SS, Cagen SZ, Shiotsuka RN, Stropp GD, Waechter, Jr. JM. Three-generation reproductive toxicity study of dietary bisphenol A in CD Sprague-Dawley rats. *Toxicol Sci* 68: 121-146, 2002.
- vi 井上 達：毒性学の現状と展望—あたらしいバイオサイエンスとしての生体異物応答科学. *科学(岩波書店)* 74(1): 18-23, 2004.
- vii Markey CM, Michaelson CL, Veson EC, Sonnenschein C, Soto AM. : The uterotrophic assay : a reevaluation of its validity in assessing the estrogenicity of bisphenol A. *Environ Health Perspect* 109 : 55-60, 2001.
- viii Palanza P, Howdeshell KL, Parmigiani S, vom Saal FS. : Exposure to a low dose of bisphenol A during fetal life or in adulthood alters maternal behavior in mice. *Environ Health Perspect* 110, Suppl.3:415-422, 2002.
- ix Howdeshell KL, Hotchkiss AK, Thayer KA, Vandenberg JG, vom Saal FS. : Environmental toxins: Exposure to bisphenol A advances puberty. *Nature* 401: 763-764, 1999.
- x L. Packer and J. Yodoi (Eds): *Redox Regulation of Cell Signaling and Its Clinical Application*. Marcel Dekker, Inc., 1999, N. Y., pp. 328.
- xi Hirabayashi, Y., and Inoue, T. Commonality and Stochasticity in Systems Toxicology. In *Handbook of Systems Toxicology* (D.A. Casciano, and S.C. Sahu, Eds.), John Wiley & Sons, Ltd., Hoboken, NJ, 2010.
- xii Huff J.: Carcinogenicity of bisphenol-A in Fischer rats and B6C3F1 mice. *Odontology*. 89: 12-20, 2001
- xiii 平林容子, 井上 達：老化と生体異物応答. *基礎老化研究* 30(4):9-15, 2006.
- xiv National Research Council of the National Academies. *Toxicity Testing in the Twenty-first Century: A Vision and a Strategy*. The National Academies Press. Washington, DC, 2007
- xv Schmidt CW. Tox21: New Dimensions of Toxicity Testing. *Environmental Health Perspectives* 117 (8), A348-353, 2009.

16. 高感受性集団に対する有害性検出手法に関する国際動向調査研究

研究分担者 小野 敦 国立医薬品食品衛生研究所 総合評価研究室 主任研究官

研究要旨

本研究では、高感受性集団に対する有害性検出手法について、国際動向の調査と我が国における今後の開発方針を検討する目的で、OECD-EDTAにおける第7回 VMG-NA(非動物試験検証管理グループ)会議およびED-QSAR グループ会議に参加し、我が国で開発・検証が進められている手法について報告を行うとともに、諸外国における試験・評価法開発の状況について調査を行った。スクリーニング系については、これまでに幾つかの *in vivo*, *in vitro* 試験法が OECD ガイドライン化され、さらに複数の系についてバリデーションが進行中である。一方、現時点で国際的に認められた確定試験法は確立されておらず、本研究班で研究開発を進めている高感受性集団に対する各種の有害性評価手法について、引き続き国際化に向けた取り組みが重要である。

A. 研究目的

近年、様々な機能を有する新規化学物質の数が増大している。それらの化学物質は微量でこれまでにない作用を有するよう設計されたものも多く、生体においては予測不可能な毒性を示す危険性が指摘されている。新規化学物質のみではなく、膨大な数の既存化学物質についてその安全性について十分な評価がなされていない物質も多く、さらには従来の安全性評価手法では検出が困難な健康影響が危惧されている。特に化学物質による高次恒常性維持機構への影響に対しては、発達時期にある子供や適応性の低い老人などは特に感受性が高く、そうした中でも化学物質の受容体原生による内分泌かく乱性については、ごく低用量で恒常性維持機構への作用を発現する危険性が数々の動物試験から示唆されており、高感受性集団では特にそうした化学物質暴露による潜在的な影響を受けている危険性がある。多くの化学物質が内分泌系に作用し、ヒトおよび野生生物に有害影響を及ぼす可能性があることを示唆する科学的根拠は増加

しており、高感受性集団への影響を考慮した迅速な対応が求められている。そのためには、迅速で信頼できる評価系の構築が急務である。この問題は我が国に限ったことではなく、規制を視野にいたした評価法開発に関しては、国際協調のもとで議論を行い将来に渡って広く有効な手法として提案、確立していく必要がある。OECD では、化学物質による内分泌かく乱の問題を緊急に対応すべき課題として、内分泌かく乱物質の試験・評価プログラムタスクフォース(EDTA)のもとに3つの検証グループ(VMG)を設置し、各国の研究者の参加のもとで、評価・試験法の検証やガイドライン化を進めている。一方、厚生労働省においても、この問題に対処すべく内分泌かく乱化学物質の健康影響に関する検討会において提案された「試験スキーム」に対応する評価試験法の開発を、本研究班を始めとする研究班において進めてきている。

本研究では、高感受性集団に対する化学物質の有害作用が懸念される内分泌かく乱性の検出・評価手法開発について、関連する国際動向の調査を行い、今後の開発方針

を検討することを目的とした調査研究を実施した。

B. 研究方法

化学物質の有害作用である内分泌かく乱性の検出・評価手法について、検証・ガイドライン化を進めるために OECD-EDTAのもとに設置された検証管理グループのうち非動物試験を担当する VMG-NA(非動物試験検証管理グループ)の第7回会議および併せて開催された ED-QSAR グループ会議に参加し、我が国で開発・検証が進められている評価手法について報告を行うとともに、諸外国における試験・評価法開発に関する国際動向を調査し、さらに関連する各国専門家と今後の方向性について議論した。

C. 研究結果

化学物質による内分泌系への影響を介した有害作用について、近年では生殖系への影響のみならず、より高次の神経系や免疫系の発達や恒常性維持機能に対する影響が懸念されている。生体の恒常性維持は、健常な大人であれば順応の可能性があるが、外的変動への適応性が低い子供や老人を含む高感受性集団においては、明らかな有害影響として示される可能性が指摘されており、メカニズムの解析はもとより、高感受性集団への影響について検出可能な迅速で信頼できる評価系の構築が求められている。厚生労働省では、この問題に対応するため内分泌かく乱化学物質の健康影響に関する検討会においてスクリーニングおよびテストリングの2段階からなる「試験スキーム」を提案し、これに適用可能な評価法について、本研究班を始めとした研究班においてこれまで様々な研究開発が進めており、すでにその成果の一部は、OECD ガイドライン化など

により国際的な提案を行ってきている(図1)。

一方、OECDでは、内分泌かく乱物質物質について科学的知見の収集、人の健康や生態系への影響を評価するための試験法の評価・テストガイドラインの作成等ため、OECDテストガイドラインに関する検討を行う専門家会合である WNT (Working Group of National Co-ordinators of the Test Guidelines Programme)の下に内分泌かく乱物質のための作業部会(EDTA:Task Force on Endocrine Disrupters Testing and Assessment)を設置し、各加盟国から提案された評価手法に関する国際的な検討を進めている。EDTAでは、化学物質の内分泌かく乱性については従来の試験法では評価が困難であるため非常に多くの既存化学物質について再評価する必要があることから、確定のための詳細試験法だけではなく、動物を使用しない比較的安価な高速スクリーニング法を含む5レベルからなるコンセプトチャルフレームワーク(図2)を設定し、各レベルに示される個別の試験法開発のため各国専門家から構成される3つの試験法検証グループ(VMG-NA, VMG-mammalian, VMG-eco)を設置して検証やガイドライン化の作業を進めている。

本研究では、第7回 VMG-NA 会議およびこれに併せて開かれた ED-QSAR ワーキンググループ会議に参加して、各種スクリーニング手法の開発における国際動向の調査を行った結果について示す。VMG-NAでは、コンセプトチャルフレームワークのレベル2に分類される動物を使わない試験法について検証およびガイドライン化を行っており、本年度、我が国で開発・提案を行ってきた HeLa9903 細胞を用いたエストロゲン受容体(ER α)転写活性化試験系による ER α アゴニスト試験

法について正式にガイドライン化 (OECD TG455)された。第7回 VMG-NA 会議では、現在我が国が中心となって進めている HeLa9903 細胞による転写活性化試験系を用いた ER α アнтаゴニスト試験法、ICCVAM (米国代替法検証センター) が中心となって検証を進めている LumiCell による ER α アゴニスト・アンタゴニスト試験法、米国 EPA が中心となって検証が進められている ER α 結合試験、H295R 細胞を使ったステロイド産生試験法のバリデーション経過について報告がなされた。検証作業が進められている試験法のうち H295R 細胞を使ったステロイド産生試験法については、バリデーションをほぼ終了し、ガイドライン化にむけてピアレビューを実施する予定である。

また、Lumicell 法は我が国で開発され既にガイドライン化された HeLa9903 細胞を用いた転写活性化試験法と同等のいわゆる me too アッセイであり、今回の会議では前回議論をもとに両者を包含するパフォーマンスベーステストガイドライン案が示され、前回に引き続き要求されるパフォーマンス基準について議論された。さらに、HeLa9903 細胞は、市販されておらず我が国の細胞バンクより OECD ガイドライン試験目的に限定した上で非商用目的であれば、細胞の開発企業である住友化学との MTA を結んだ上で入手・利用が可能であるが、これに対して OECD ガイドライン試験の実施については委託試験施設における商業利用が想定されることから、OECD ガイドラインで用いる生物資源譲渡に際しての MTA 案が事務局から示された。今後、新たにガイドライン化の提案を行う試験法においては、こうした問題への対応も検討する必要がある。

ED スクリーニングのための QSAR 手法に関しては、当初 VMG-NA で議論を行ってき

たが、OECD では個別の QSAR のバリデーションを行わないという決定がされて以降、VMG-NA のサブグループで主に情報交換を目的とした議論を進めているが、一方、OECD では、化学物質の毒性の既存情報をもとづいた効率的な評価手法として、各国から提案された様々な毒性エンドポイントおよび毒性発現のメカニズムを対象として各種の QSAR モデルを加盟各国で共通に利用可能とするため OECD QSAR Toolbox の整備を進めており、その第 2 期開発において、EPA で開発された内分泌かく乱メカニズムの評価のため ER 結合予測エキスパートモデルが組み込まれる予定となっている。小野は昨年度 OECD で実施された OECD QSAR Toolbox への組み込みに向けたレビュー会議においてレビューワーを担当した。OECD レビュー会議では、Toolbox への組み込みが既に了承され、EPA での専門家レビューの結果を待って Toolbox に組み込まれる予定である。我が国でも「試験スキーム」におけるスクリーニング手法のひとつとして 3D ドッキングモデルによる *in silico* 予測法の開発を進めており、今後、複数手法を用いた精度向上などについても検討する必要がある。

in vivo 試験法について検討を行っている VMG-mammalian において、これまでに子宮増殖アッセイ (TG 440)、ハーシュバーガーアッセイ (TG 441) がガイドライン化され、また 28 日間反復投与試験 (TG 407) の改定が行われており、我が国は、これらの試験法開発においても多大な貢献をしてきている (図 2)。

諸外国の動向として、米国 EPA では化学物質の内分泌かく乱性のスクリーニング評価のための試験法が整備されたとして、EDSP (内分泌かく乱スクリーニングプログラム) を正式にスタートした。EDSP では、EPA でリストア

アップした内分泌かく乱性について評価を行うべき 67 化合物について、その製造・販売業者に対して 2 段階からなる評価のうち 1 段階目に示されるスクリーニング試験データ(図 3)の提出が求められ、2 段階目に相当する確定試験実施の必要については、スクリーニング試験結果から判断されることとなっている。現在、EDSP の 2 段階目として 5 種類の試験(図 4)が示されているが、ヒト健康影響に関するものはラット 2 世代試験のみで、その他は生態毒性評価に関するもので、また、ほとんどの試験法は検証段階である。

他方、米国 FDA では、内分泌かく乱性が懸念される化合物の一つであるビスフェノール A について、一度はヒト健康に対して直ちに問題があるという科学的根拠はないとしたものの、特に幼児期における高感受性集団に対する健康影響の可能性があると代替化合物への変更を含む対応を求めるとともに、詳細な再評価のための研究を開始した。

内分泌系への影響を介した有害作用は、生殖器官の発生・発達過程を制御する重要な因子である性ホルモンとその類似の作用に主に焦点が当てられ議論されてきたが、神経系や免疫系の発達や機能に対する悪影響のメカニズムのひとつとして内分泌かく乱作用との関連を挙げる専門家もおり、これまでのところ、いわゆる確定試験法について国際的に認められた方法はない。本研究班の成果や米国 FDA 等の研究により今後得られるであろう成果は、確定試験における評価エンドポイントの確立に役立つと期待される。

D. 考察

化学物質の内分泌かく乱による有害影響に関しては、一部の現象と特定の化学物質が関係する可能性を除き、野外調査やヒトの

疫学的調査で報告される現象・病態と内分泌かく乱というメカニズムの関連については必ずしも決定的な結論は得られていない。さらに、これまで内分泌系への影響を介した有害作用については、生殖器官の発生・発達過程を制御する重要な因子である性ホルモンとその類似の作用に主に焦点が当てられ議論されてきたが、近年ではより高次の神経系や免疫系の発達や恒常性維持機能に対する影響が懸念されている。高次恒常性機能への影響に対しては、外的変動への適応性が低い子供や老人を含む集団では高感受性に有害影響が発現する可能性から、化学物質のリスク評価においては、そうした高感受性集団への影響についても十分な検討が必要である。

厚生労働省では、この問題に対応するため内分泌かく乱化学物質の健康影響に関する検討会において 2 段階からなる「試験スキーム」を提案し、本研究班を始めとした研究班においてこれまで様々な研究開発が進めている。高感受性集団に対する影響の評価は急務の課題であり、また、これらの問題は我が国に限ったことではないため、その評価法の開発は国際協調の下で行われるべきである。試験法開発は各国政府関係機関や大学などの研究機関が様々な観点から精力的に進めている。一方、そうした試験法は各国、各研究者の多様な発想に基づき提唱されており、また、用いられる材料も様々であり、その信頼性やリスク評価上の有用性に関して必ずしも世界的に合意されたものではない。こうした中、その特異性、再現性、検出感度、定量性などが検証された世界的にも共通の試験法の早期確立が求められており、OECD では化学物質による内分泌かく乱の問題に対応するため EDTA を設置し、その評価手法を 5 段階からなるコンセプトual

フレームワークに整理して、各種の試験法について検証およびガイドライン化を進めており、我が国もこれまで多くの貢献をしてきた。OECD では、これまでに、我が国で開発されたエストロゲン受容体転写化成果試験法を始めとした幾つかのスクリーニング試験法についてガイドライン化された。

しかし、いわゆる EDCs 暴露と多様な生物学的影響との関連性を示唆する報告は多数あるものの、作用機序はほとんど明らかにされていないことから、EDCs 暴露による直接および間接的な影響ならびに EDCs 暴露の一次的あるいは二次的影響との判別を困難にしている。それは同時に、*in vitro* データの *in vivo* における影響への外挿や限られた *in vivo* データからの影響の予測ならびに実験動物のデータのヒトへの外挿には、かなりの注意が必要であることを示唆している。一方、内分泌系への影響を介した有害作用については、一部の現象を除き、ヒトにおける影響と内分泌かく乱のメカニズムの関連について明確な結論は得られていないため、科学的な評価を行う上で不確実な部分も多く残されており、さらには、ターゲットとなる生体の発生・発達や高次恒常性維持機構に関する生物学的な基礎の理解が不十分であることなどから、ヒト健康影響についての確定試験について国際的に認められた試験法はない。

化学物質の内分泌かく乱のみでなく高次機能への有害影響の評価手法を確立していくためには、本研究によりこれまでに得られた成果について積極的に国際発信を行っていくとともに、引き続き内分泌かく乱による有害作用発現メカニズムの科学的な解明を進め、それらの成果をもとにガイドライン化を含めた提案を行っていくことが重要である。

E. 結論

化学物質による内分泌系への影響による高次の神経系や免疫系の発達や恒常性維持機能に対する有害影響が懸念されている。高次機能への影響については既存の試験法では、適切な評価が出来ないため、新たな評価手法の開発とその結果をもとにしたリスク評価の実施が求められている。化学物質による内分泌かく乱性の評価手法については、OECD EDTA のもとに設置された3つの検証グループにおいて進められており、これまでに幾つかのスクリーニング試験法については既にガイドライン化され、さらに複数の試験法についてガイドライン化に向けた検証作業が進められている。

一方、EDCs 暴露と多様な生物学的影響との関連性を示唆する報告は多数あるものの、作用機序はほとんど明らかにされておらず、スクリーニング試験法により得られた結果や限られた *in vivo* データからの影響の予測ならびに実験動物のデータのヒトへの外挿は困難であり、確定試験法の確立が望まれているが、現時点では特にヒト健康影響評価に用いられる国際的に認められた方法はない。

内分泌かく乱作用は包含的機序であり、その潜在的な毒性影響には、多くの器官が関与するため実際の影響は多様である。確定試験法の確立に向けて、生体における恒常性維持における生理学的変動や調整機能および感受性に関する年齢差や個体差に起因した影響についてもさらに研究を行う必要がある。特に外的変動への適応性が低い子供や老人を含む高感受性集団における有害影響を適切にリスク評価するためには、高次恒常性維持機構に関する生物学的な基礎の解明と科学的根拠に基づいた評価系の構築が必要である。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究発表

1. 論文発表

特になし

2. 学会発表

特になし

H. 知的財産所有権の出願・登録状況

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

<i>In vitro</i>
Estrogen receptor (ER) binding - rat uterus
Estrogen receptor α (hER α) transcriptional activation - Human cell line (HeLa-9903) [OECD Test Guideline 455]
Androgen receptor (AR) binding - rat prostate
Steroidogenesis - Human cell line (H295R) [US lead, validated in OECD program]
Aromatase - Human recombinant
<i>In vivo</i>
Uterotrophic (rat) [OECD TG 440]
Hershberger (rat) [OECD TG 441]
Pubertal female (rat)
Pubertal male (rat)
Amphibian metamorphosis (frog) [OECD TG 231]
Fish short-term reproduction [OECD TG 229]

図 3 US-EPA EDSP における 1 段階目(Tire 1)スクリーニング試験法

Mammalian two-generation rat (may be replaced by Extended F1-Generation)
Avian two-generation (Japanese quail) [US lead, OECD validation program]
Amphibian growth/reproduction (S. tropicalis) [US/Japan lead, OECD validation program]
Fish multigeneration (medaka) [US/Japan lead, OECD validation program]
Mysid multigeneration [US lead, OECD validation program]

図 4 US-EPA EDSP における 2 段階目(Tire 2)試験法

委託研究

高感受性集団へ影響を及ぼす化学物質の電算検索

委託先 板井昭子、水谷実穂 株式会社 医薬分子設計研究所

研究要旨

核内受容体結合活性を有する化合物の高速スクリーニング手法として、自動ドッキング法 ADAM を核とした *in silico* スクリーニングにより標的核内受容体の三次元構造情報に基づく、化学物質の結合様式の推定ならびに結合性予測を行った。本年度は、これまでに構築したエストロゲン受容体 α (ER α) およびアンドロゲン受容体 (AR) を標的とした、結合強度予測システムを用いて、国立医薬品食品衛生研究所より供与された化合物リストに従い約 1,500 化合物の予測計算を実施した。得られた予測結果は、詳細試験実施のための優先順位づけに有用である。

A. 研究目的

近年、蛋白の単離精製や結晶構造解析技術の進歩はめざましく、内分泌かく乱物質の作用標的と推定される種々の核内受容体についても、リガンド結合ドメインの結晶構造データが多種公開されている。当研究者らは以前より、標的蛋白の立体構造(結晶構造またはモデリング)が利用できる場合に、任意の低分子リガンドの標的蛋白への結合様式と結合の強さを推定する自動ドッキングの方法論を確立してきた。また、化合物構造の高精度な3次元化法や標的蛋白-リガンドの複合体エネルギー極小化法、結合自由エネルギー推算法の開発も進めてきた。これら高度化した分子設計手法を効果的に組み合わせ、膨大な数の化合物から標的蛋白に安定に結合しうる少数の化合物を選別する *in silico* スクリーニング法を開発し、創薬スクリーニングにおいては豊富な実績を上げている。本研究では、自動ドッキング法を核とした *in silico* スクリーニングの手法を、種々の化学物質の内分泌かく乱性スクリーニングへの応用を目的として標的核内受容体への結合性予測モデルの構築を行ってきており、これまでに、エストロゲン受容体 α (ER α)、エスト

ロゲン受容体 β (ER β)、およびアンドロゲン受容体 (AR) を標的として、各々の結合強度の予測システムを構築した。

これまでに構築したエストロゲン受容体 α (ER α) およびアンドロゲン受容体 (AR) を標的とした、結合強度予測システムを用いて、国立医薬品食品衛生研究所より供与された化合物リストに従い約 1,500 化合物の予測計算を実施した。

B. 研究方法

1. ER、AR 結合強度予測計算

国立医薬品食品衛生研究所より供与された約 1,500 件の化合物リストについて、計算対象化合物の平面化学構造式を、低分子構造三次元化プログラム Key3D により、原子電荷などの付加情報を含む精度の高い三次元構造に変換した。さらに自動ドッキングプログラム ADAM を実行するために必要な水素結合情報、コンフォメーション探索時の結合回転情報や芳香族環の位置情報などを付加した。

蛋白質-リガンド自動ドッキングプログラム ADAM を用いて、計算対象化合物と標的受容体との安定な複合体構造モデルを生成し

た。続いて、複合体モデルが得られた化合物について蛋白質-リガンド複合体構造最適化プログラム Bluto を使用して、複合体のエネルギー極小化を行なった。最後に蛋白質-リガンド複合体における結合自由エネルギー解析プログラム GenB ならびに複合体形成に伴う水素結合・水和の変化を見積もるプログラム Desolv を用いて複合体安定化に寄与すると考えられる各種エネルギー項の計算を実行した。

2. ER 予測システムを利用した *in silico* スクリーニング

ER 結合強度予測のため、平成 15 年度に構築・検証した以下の式を使用し logRBA の推算をした。

$$\log RBA(ER\alpha) = -1.668GBelc - 0.448GBrep - 0.229GBcnf - 0.148Desolv - 4.749 \quad (1)$$

GBelc, GBrep, GBcnf, Desolv: 結合自由エネルギー計算で算出される各エネルギー項

GBelc: GenB で計算される分子間静電相互作用エネルギー

GBrep: GenB で計算される分子間立体相互作用エネルギー

GBcnf: GenB で計算されるリガンドの結合に伴う回転結合自由度の束縛効果

Desolv: Desolv で計算されるリガンド、蛋白双方の複合体形成に伴う脱溶媒和

3. AR 予測システムを利用した *in silico* スクリーニング

AR 結合強度予測には、これまでの検討結果から 2 ステップモデルによる *in silico* スクリーニング計算を実施した。すなわち、まず 1t63 構造について安定複合体構造の計算を行い、安定複合体が得られたものについては予測計算を実施し、安定複合体が得ら

れなかったものについてはさらに 2pnu 構造について予測計算を実施した。AR 予測モデルにおいて logRBA 推算のために用いた式を以下に示す。

1t63:

$$\log RBA(AR-1t63) = -2.213 GBelc - 0.418 GBrep - 0.021 GBcnf - 0.106 Dlig - 0.203 Desolv + 0.125 GBsole + 0.091 GBsolb - 5.523 \quad (1)$$

2pnu:

$$\log RBA(AR-2pnu) = -2.381 GBelc - 0.479 GBrep - 0.238 GBcnf - 0.122 Dlig - 0.133 Desolv + 0.066 GBsole - 5.880 \quad (2)$$

GBelc, GBrep, GBcnf, Dlig, Desolv, GBsole, GBsolb: 結合自由エネルギー計算で算出される各エネルギー項

GBelc: GenB で計算される分子間静電相互作用エネルギー

GBrep: GenB で計算される分子間立体相互作用エネルギー

GBcnf: GenB で計算されるリガンドの結合に伴う回転結合自由度の束縛効果

Dlig: Bluto で計算されるリガンド分子内エネルギー変化(単独存在時と蛋白結合時とのエネルギー差)

Desolv: Desolv で計算されるリガンド、蛋白双方の複合体形成に伴う水素結合変化

GBsole: GenB で計算されるリガンド脱溶媒和エネルギー

GBsolb: GenB で計算される蛋白脱溶媒和エネルギー

C. 研究結果

1. ER、AR 結合性予測システムを利用した、約 3,000 化合物の予測計算

結合強度の予測計算を実施する化学物質として、今年度は既存化学物質を中心に約 1,500 化合物がリストアップされた。ただし、このうち以下のような化合物は計算の対象外とした。

- CAS 番号から化学構造式が得られなかった物質
- 複数の物質の混合物
- 複数の位置異性体を含む物質
- ポリマー
- 金属錯体
- ケイ素、ホウ素、金属など、分子力場パラメタが未整備な元素を含む物質
- 非常にフレキシブルな物質 (回転可能な結合が 30 本以上)
- 自動ドッキングの足がかりに利用できる水素結合可能な原子 (酸素、窒素) や環構造等を全く含まない物質

結果として、ER 結合モデルでは 1,059 化合物についての予測結合値を得ることが出来た。また、AR 結合モデルでは、1 段階目の 1t63 構造において 953 化合物について、さらに 1t63 構造で安定構造が計算されなかった化合物のうち 45 化合物について 2pnu 構造において結合予測値の計算に成功した (表 1)。

D. 考察

これまでに構築した ER モデルおよび 2 ステップの AR 予測モデルを用いて 1,535 化合物構造の予測計算を実施し、ER について 1,059 化合物、AR について 998 化合物の結合予測値の計算に成功した。これらの結果は、他の *in vitro* 系との比較により *in silico* 予測系の信頼性や適応性の検討に用いられると

ともに、次のステップとしての *in vitro* スクリーニングにおける化合物優先順位付けにおける指標として有用である。

これまでの研究における種々の工夫により *in silico* 結合性予測システムの精度は大幅に向上したが、残された課題も多い。標的蛋白-リガンドの結合自由エネルギー推算に関する根本的な難しさ (物理化学における基礎的課題)、水分子の扱いの問題、蛋白構造の動き (induced fit) の問題などである。この中で特に、蛋白構造の動きが、予測の成否を左右する重大なファクターの 1 つとなっている。核内受容体構造については近年の研究により知見が増えたとはいえ、様々な化学物質の構造活性相関データから考えると、未だ解明されていない大きな induced fit の動きがある可能性がある。これまでに解析されている複合体構造よりもっと大きな構造変化がもたらされるケースがあるのではないかと推測される。自動ドッキングの手法は、蛋白構造の動きまで考慮に入れようとする、探索すべき可能性の数が途方もなく膨大なものになってしまうため、限定的にしか考慮することができない。このような現状では、まず標的蛋白の動きの範囲やパターンを事前に研究しておき、それをうまく *in silico* スクリーニングに組み込んでいくスキームの開発が最重要の課題である。

E. 結論

in silico スクリーニングは、膨大な数の化学物質の評価を非常に高速かつ安価に行うことが可能であり、内分泌かく乱の問題解決に非常に有用なツールである。今回得られた予測計算値は、今後の化合物優先順位付けにおける指標のひとつとして有用である。

表1 in silico log(RBA) for ER, AR

GAS No.	ER score	AR score						
10083-24-6	-0.05	-1.2	125997-20-8	-2.13		1662-06-2	0.35	-0.28
10161-33-8	-0.19	-0.66	126535-15-7	0.12	-4.56	17078-27-2	-0.36	-0.85
101831-37-2	-0.69	-0.83	12672-29-6	-1.81	-2.08	17092-92-1	-1.47	-2.26
10215-74-4	-0.62	0.16	12674-11-2	-1.28	-2.04	173584-44-6	-0.59	-0.97
10236-47-2	1.05		12751-23-4	-1.6	-2.04	17627-44-0	-0.62	-1.69
10332-51-1	-1.19	-3.07	13026-26-1	0.71	0.14	17817-31-1	0.55	0.31
103361-09-7	-0.68	-0.7	1302-78-9	-3.4		1816-85-9	0.83	1.03
1034-10-2	-1.05	-0.53	13049-13-3	-0.42	-0.9	1844-00-4	-0.11	-0.59
104098-48-8	-1.11	-2.06	13188-60-8	-3.46		1845-11-0	1.29	0.79 *
104206-82-8	-0.68	-1.38	131983-72-7	-0.59	-1.43	18719-03-4	-4.88	
10420-73-2	-1.04	-1.85	1321-64-8	-2.2	-2.79	18839-90-2	0.37	0.21
106-14-9	-2.53		13301-61-6	-1.31	-0.66	1889-71-0	-1.41	-1.87
1064-48-8	-2.62		135410-20-7	-1.65	-2.29	19315-93-6	-1.02	-1.9
1067-53-4	-3.87	-4.4	13595-25-0	1.35	0.14	19562-30-2	-1.01	-1.9
11013-97-1	-0.13	-1.63 *	137-88-2	-0.7	-1.43	19812-93-2	-0.4	-1.94
11096-82-5	-2.29	-2.43	140-03-4	-2.38		2005-08-5	-1.35	-2.28
11097-69-1	-2.01	-2.25	1420-04-8	-1.54	-1.25	20307-84-0	-0.84	-1.83
11104-28-2	-1.39	-2.12	14548-48-2	-1.63	-2.2	20824-56-0	-5.2	
11141-16-5	-1.39	-2.12	1455-42-1	0.06	-1.63	210880-92-5	-1.16	-2.45
111687-36-6	-5.34		148477-71-8	-0.99	-1.34	21265-50-9	-5.2	
111988-49-9	-1.89	-2.53	14868-03-2	0.1	-2.26	21655-73-2	-1.37	-2.43
112281-77-3	-1.71	-1.61	149877-41-8	-0.33	-0.82	2167-51-3	0.85	-1.27
113-48-4	-1.49		152007-82-4	-4.77	-3.5	2235-43-0	-3.11	-5.08
113-98-4	-1.66	-1.79	15262-86-9	-0.56	-0.88	22473-78-5	-5.2	
115-86-6	-1.12	-2.43	153233-91-1	-0.42	-1.22	22662-39-1	-0.98	-2.91 *
116714-46-6	-1.66	-2.6 *	153719-23-4	-1.26	-2.11	2268-98-6	0.26	0.03
117337-19-6	1.07	1.14	154-69-8	-0.84	-1.53	2277-92-1	-1.55	-2.37
117718-60-2	-1.29	-2.98	15499-84-0	-0.36	-1.55	22984-54-9	-2.33	
117-81-7	-1.01	-2.14	1553-56-6	-0.61	0.26	2302-96-7	-2.19	-2.81
117-83-9	-1.98	-2.67	15708-41-5	-5.2		23076-35-9	-1.1	-2.44
1180-25-2	-0.21	0.27 *	1571-75-1	0.15	-0.94	23386-52-9	-2.28	-4.22
118-65-0	-0.57	-1.39	15721-78-5		-2.36 *	23526-02-5	-2.61	2.47 *
118-82-1		-5.85	15797-52-1	0.26	-1.01	2373-38-8	-2.16	
120068-37-3	-2.33	-0.77	15827-60-8		-7.14 *	2420-17-9	-1.34	-2.31
120-44-5	-0.78	-1.91	1596-67-4	-1.34	-0.44	2425-79-8	-2.06	-2.15
1227-51-6	-0.61	-0.63	16069-36-6	0.15	1.17	2439-10-3	0.76	-0.64
122836-35-5	-0.04	-0.73	161050-58-4	0.19	-1.06	24758-49-4	-0.76	-0.87
1228-72-4	0.95	0.94	16355-28-5	0.65	-0.07	24801-88-5	-3.72	
123-69-3	-1.56		1643-19-2	-1.63	-1.98	25154-52-3	-0.84	-1.02
124-28-7	-2.06		16485-47-5	-4.01	-4.11	25155-23-1	0.92	-1.68

*: ARスコア計算に2pnuモデルを使用した化合物(その他は1t63モデルを使用)
 空欄は計算値が得られなかった化合物

CAS No.	EP score	AR score						
25155-30-0	-1.58	-0.29	3457-48-5	-0.63	-2.07	5315-79-7	-0.29	-1.72
2529-64-8	0.7	0.16	345-83-5	-1.67	-2.09	53-45-2	-0.31	-0.74
2530-83-8	-3.19	-3.81	34816-55-2	1.22	0.72	53469-21-9	-1.58	-2.46
2530-85-0	-2.83		3562-99-0	-1.52	-1.48	53-63-4	0.62	-0.24
25637-99-4	-3.58	-2.34	35958-30-6		-3.45 *	53716-49-7	-1.77	-3.03
25646-71-3	-0.18	-2.33	3601-97-6	0.11	0.34	538-81-8	-0.63	-1.93
26264-06-2	-1.74	-0.26	364-62-5	-0.67	-1.18	53905-28-5	-0.52	-1.43
2642-82-2	-1.32	-1.62	3648-21-3	-1.42	-3.04 *	5394-98-9	0.42	-0.88
2668-66-8	0.46	1.03	3669-41-8	-0.43	-1.14	53988-10-6	-1.39	-3.05
26780-96-1	-1.09	-2.24	3709-43-1	-2.15	-3.04	5400-80-6	-1.65	-2.18
2687-27-6	0.6	-0.63	37514-39-9	-1.33	-2.84	5436-43-1	-1.71	-2.67
2691-41-0	-1.29		3810-74-0	0.92		5447-02-9	-0.73	-0.2
2706-28-7	-1.92	-1.77	3860-63-7	-1.12	-2.48	54574-82-2	-1.46	-1.75
27554-26-3	-1.9		38638-05-0	0.23	-1.21	5468-75-7	1.8	-4.51 *
2772-45-4	-0.43	-1.26	39322-78-6	-1.24	-1.75	547-60-4	-1.59	-2.52
28324-52-9	-1.21	-2.51	398-23-2	-2.09	-2.54	54760-75-7	-0.5	-1.74
2835-78-1	-1.05	-1.91	3985-81-7	-1.81		54965-24-1	0.3	-0.87
28463-03-8	-0.07	-0.89	3988-03-2	-2.11	-2.2	54992-23-3	-1.54	-1.1
28553-12-0	-1.83		4032-80-8	-0.72	-1.72	552-59-0	0.62	-0.21
2917-26-2	-2.07	-1.03	40615-36-9	-0.36	-1.29	552-80-7	0.21	-1.07
2943-75-1	-3.42		4073-98-7	0.39	-0.51	556-67-2	-3.45	-3.97
29558-77-8	-0.67	-1.27	4080-31-3	-1.26	-2.98	56038-13-2	-0.88	-1.8
299-88-7	-0.46	0.21	438-22-2	0.24	-1.12	56424-77-2	-1.82	-2.39
302-23-8	0.14	-0.05	4553-89-3	-1.27	2.19 *	566-65-4	0.51	0.25
303-45-7		1.54 *	457-68-1	-1.71	-2.12	566-75-6	0.59	0.71
31127-54-5	0.26	0.12	4709-68-6	0.3	-0.29	571-22-2	0.35	1.11
31430-15-6	-0.23	-0.26	491-45-2	-0.07	-1.19	571-92-6	0.7	0.26
31431-39-7	-0.22	-0.24	491-54-3	-0.04	-0.3	575-03-1	-1.09	-1.96
315-37-7	0.23	-0.42	491-67-8	-0.55	-0.83	57801-81-7	-1.12	-2.5
3159-62-4	-2.53		5003-03-8	-0.34	-1.86	585-86-4	-1.15	-1.85
3179-90-6	-1.36	-1.16	501-36-0	-0.07	-0.04	59303-07-0	-1.58	-2.34
3294-03-9	0.4		50-55-5	-1.33	1.67 *	5975-78-0	0.15	-0.39
33213-65-9	-0.91		50-65-7	-1.45	-2.09	5976-61-4	0.96	0.18
335-36-4	-2.78	-3.18	5108-94-1	1.54	0.62	6004-24-6	-0.89	
33629-47-9	-0.51	-1.8	514-36-3	-0.39	-0.41	6052-84-2	-0.14	-1.5
33791-58-1	-1.34		515-13-9	-0.64	-1.71	611-79-0	-0.7	-1.97
3383-96-8	-0.24		51997-43-4	-0.75	-1.11	611-98-3	-0.9	-2.11
3387-36-8	-1.24	-1.9	5208-59-3	-0.72	-2.26	6119-92-2	-1.38	-1.39
3387-41-5	-1.63	-2.71	5219-17-0	0.68	-0.33	613-42-3	-0.89	-0.89
3388-04-3	-2.55	-3.51	523-31-9	-0.81	-1.99	621-77-2	-1.83	
3434-79-5	1.44	0.37	529-44-2	0.83	-1.56	62-99-7	0.37	0.87
34364-42-6	0.3	-2.91	529-59-9	0.24	-0.29	630-56-8	-0.39	0

* : ARスコア計算に2pnuモデルを使用した化合物(その他は1t63モデルを使用)
 空欄は計算値が得られなかった化合物

CAS No.	ER score	AR score						
632-99-5	0.57	-1.03	7370-92-5	-0.99	-1.25	10473-70-8	-1.52	-2.45
633-03-4	1.26	-3.18 *	7500-76-7	-0.51	-0.73	105650-23-5	-0.34	-2.36
6335-83-7	-0.52	-1.42	75938-34-0	0.08	-0.58	106-87-6	-1.95	-2.66
63449-39-8	-2.22	-2.7	7620-77-1	-2.53		11013-97-1	1.47	0.33 *
6381-61-9	-1.7	-4.11	76-22-2	-1.86		11096-82-5	-2.29	-2.43
638-66-4	-2.71		7659-95-2	-1.54	0.64 *	11097-69-1	-2.01	-2.25
640-87-9	-0.14	-0.41	7773-34-4	-0.07	-0.54	111011-76-8	1.23	
64683-40-5	0.22	-5.11 *	78-30-8	-0.5	-1.56	111-54-6	-2.38	-2.94
6485-34-3	-1.71	-3.77	79199-51-2	-0.04	0.05	112665-43-7	-1.22	-2.11
65118-81-2	-0.3	-2	79241-46-6	-1.15	-0.31	1133-64-8	-1.79	-2.81
6515-36-2	0	-1.29	797-64-8	0.2	0.79	1146-71-0	-0.82	-2.25
66046-78-4	-3.2	-5.16	8001-35-2	-2.73	-3.25	1150-37-4	-1.16	-3.51
66085-00-5	-1.14		80-10-4	-3.59	-5.3	1150-42-1	-1.14	-2.71
6753-98-6	-0.9	-1.94	8024-37-1	-0.09	-1.17	115436-74-3	0.13	-1.19
6757-06-8	-0.95	-2.19	81-21-0	-1.98	-2.59	117279-73-9	0.35	-2.38
67651-34-7	-0.58	-1.93	81335-77-5	-1.02	-1.55	119-38-0	-1.56	
67762-72-5	-2.27	-1.86	82413-20-5	1.03	0.1	12126-59-9	-1.25	-2.97
67859-51-2	-5.2		83-46-5	-0.89	-0.03 *	123482-23-5	-0.1	-0.29
67989-24-6	-1.67		84852-15-3	-0.66	-0.79	123524-52-7	0.41	
68140-45-4	-2.47	-2.4	850-52-2	-0.29	0.17	1248-18-6	-1.15	-2.07
68155-99-7	-1.16	-1.1	855-96-9	0.78	-0.86	126-72-7	-2.4	
68171-29-9	-2.47	-2.4	87546-18-7	-0.8	-0.43	12737-87-0	-2.28	-2.92
68227-46-3	-0.32	-1.34	87674-68-8	-1.41		12768-44-4	2.14	-3.58 *
68398-18-5	-1.41	-2.56	879-65-2	-2.02	-2.44	128-66-5	0.41	-0.65
68411-46-1	0.06	-1.22 *	89740-11-4	-2.49	-1.48	132907-72-3	-0.07	-0.66
68442-68-2	0.41	-0.2 *	89778-27-8	-0.82	-1.09	133920-06-6	-2.03	-2.42
68515-40-2	-1.6	-1.6	9002-92-0	-1.1	-1.2	13552-44-8	-0.94	-2.25
68784-32-7	-1.77	-2.06	9005-00-9	-1.17		1402-68-2	-0.78	-1.28
6898-97-1	0.99	-0.39	9005-67-8	-1.77		1406-66-2	0.36	0.13
69-09-0	0.2	0.37	900-91-4	-1.78	-1.44	140695-21-2	0.3	-0.25
7061-81-6	-1.42	-2.3	90-49-3	-1.68	-2.37	1420-04-8	-1.94	-2.82
71030-11-0	0.58	1.07	93106-60-6	-0.95	-1.25	144035-83-6	-0.65	-2.49
7128-64-5	0.6	-1.39 *	94361-06-5	-1.08	-1.01	14484-47-0	-0.92	-2.09
71-58-9	0.62	-2.08	961-29-5	0.67	0.09	14504-15-5	-0.42	-0.4
71888-89-6	-0.83	-1.13	96182-53-5	-1.26	-2.07	145438-97-7	-2.19	
72252-48-3	-2.57	-2.23	973-67-1	-1.04	-1.69	148081-72-5	-0.73	-1.7
7240-38-2	-0.81	0.24	97780-06-8	-0.17	-1.88	149-17-7	-0.92	-1.82
72490-01-8	-1.08	-1.62	98106-17-3	0.13	-1.04	150821-03-7	0.03	-4
728-87-0	-0.71	-1.6	98510-89-5	-1.45	-2.58	1508-45-8	0.78	-0.59
730-46-1	-1.44		100643-96-7	-0.41	-0.95	15263-30-6	-0.93	-0.67
7336-20-1	-1.08	-2.93	10190-99-5	-0.7	-2.8	153504-70-2	-1.73	-2.69
7370-44-7	-0.64	-0.7	102676-31-3	-0.87	-1.87	15503-86-3	1	-0.2

* : ARスコア計算に2pnuモデルを使用した化合物(その他は1t63モデルを使用)
 空欄は計算値が得られなかった化合物

CAS No.	ER score	AR score						
1592-36-5	-0.96	-2.83	26049-68-3	-0.96	-3.01	366-70-1	-1.1	-1.98
16423-68-0		-3.34	26049-69-4	-1.18	-1.42	3693-22-9	-0.89	-2.41
16699-10-8	-0.71	-1.78	26049-70-7	-1.44	-1.87	37076-68-9	-2.61	-2.65
169590-42-5	-0.1	-3.33	26049-71-8	-1.49	-2.14	37087-94-8	-0.62	-2.45
1777-84-0	-0.72	-2.11	26148-68-5	-1.53	-2.58	3761-53-3	-1.22	-3.24
18523-69-8	-1.41	-3.29	26308-28-1	-0.55	-1.33	3771-19-5	-0.98	-1.13
18771-50-1	-1.63	-1.78	27323-65-5	-2.13	-3.25 *	3775-55-1	-1.4	-2.73
18968-99-5	-1.94	-2.93	27470-51-5	-1.94	-3.9	3851-16-9	-1.71	-3.5
19408-74-3	-2.1	-2.73	2757-90-6	-1.06	-1.26	38514-71-5	-1.9	-2.33
1972-08-3	0.25	-0.28	2784-94-3	-0.47	-1.23	38777-13-8	-1.4	-2.69
20380-58-9	-0.71	-1.63	27912-14-7	-1.05	-1.63	3930-20-9	-0.28	-2.08
2058-46-0	0.31	-1.92	2820-51-1	-1.48	-2.78	398-32-3	-1.38	-2.2
2104-09-8	-1.59	-2.01	28314-03-6	-0.96	-1.27	40580-89-0	-1.85	
2113-61-3	-1.02	-2.75	28754-68-9	-1.4	-2.81	4075-79-0	-1.28	-2.45
2122-86-3	-1.39	-2.86	29069-24-7	1.1	-0.07 *	40762-15-0	-0.19	-0.95
21340-68-1	-1.2	-2.58	29110-68-7	-1.47	-2.82	40778-40-3	-1.24	-0.6
21416-67-1	-1.76	-2.45	29611-03-8	-0.38	-1.73	41340-25-4	-1.37	-1.94
21416-87-5	-1.65	-2.04	29676-95-7	-1.63	-2.1	41372-08-1	-1.07	-2.23
21498-08-8	-1.41	-2.91	297-78-9	-2.29	-3.22	42011-48-3	-1.69	-2.12
21626-89-1	-0.22	-1.45	29929-77-9	-1.15	-2.69	42615-29-2	-1.36	-0.56
2163-79-3	-0.91	-2.63	3031-51-4	-0.94	-3.35	43033-72-3	-0.86	-4.13 *
21638-36-8	-1.03	-3.08	303-34-4	0.27	0.36	4363-03-5	-1.22	-2.83
21739-91-3	-2.21	-2.28	30418-53-2	-2.08	-3.06	4463-22-3	-1.3	-3.03
2185-92-4	-1.54	-3.2	3096-50-2	-1.25	-2.1	4553-89-3	-0.97	3.69 *
21928-82-5	-0.23	-0.8	31036-80-3	-1.41	-2.91	480-54-6	0.75	-0.08
2198-59-6	-1.19	-2.62	31873-81-1	0.27	-2.19	486-12-4	0.05	-1.9
22494-47-9	-2.24	-1.39	324-93-6	-1.02	-2.52	492-80-8	-0.52	-1.27
22571-95-5	0.54	0.36	33372-39-3	-1.15	-1.27	493-78-7	-0.95	-1.93
22760-18-5	-0.53	-1.29	33389-33-2	-1.38	-2.7	494-03-1	-1.1	-1.91
23031-25-6	-1.22	-1.64	33389-36-5	0.01	-1.97	5036-03-3	-0.43	-1.53
23076-35-9	-1.1	-2.44	33979-15-6	-0.07		50-55-5		0.58 *
2318-18-5	0.22	-0.94	34176-52-8	-0.95	-2.52	50892-23-4	-1.87	-3.03
23246-96-0	0.51	0.27	34522-69-5	-2.2	-3.49	51325-35-0	-1.44	-2.34
23282-20-4	-1.42	-1.44	3458-22-8	-2.82	-3.45	51481-61-9	-0.45	-1.57
2425-06-1	-2	-2.74	34627-78-6	-1.47	-1.91	51542-33-7	-1.68	-3.02
24365-47-7	1.99	0.84	3544-23-8	-0.45	-2.21	5160-02-1	-1.36	-1.56
2438-88-2	-2.3	-3.37	35449-36-6	-1.13	-1.16	51706-40-2	-0.98	-1.72
2439-10-3	0.87	-0.23	3564-09-8	-1.35	-2.95	51715-17-4	0.17	-1.09
24554-26-5	-1.34	-2.95	35660-60-7	-1.29	-2.45	518-82-1	-0.58	-1.43
25451-15-4	-1.82	-2.18	3570-75-0	-0.97	-2.33	5208-87-7	-2	-3.04
2578-75-8	-1.34	-1.88	36133-88-7	-1.33	-1.52	531-06-6	-1.23	-2.33
25962-77-0	-0.76	-1.2	363-17-7	-1.23	-1.64	531-18-0	-1.84	-1.9

*: ARスコア計算に2pnuモデルを使用した化合物(その他は1t63モデルを使用)
空欄は計算値が得られなかった化合物

CAS No.	ER score	AR score						
531-82-8	-0.87	-1.28	63449-39-8	-2.22	-2.7	77094-11-2	-0.78	-2.7
53757-28-1	-2.36	-2.78	6379-46-0	-2.77	-3.66	77191-36-7	-1.28	-2.55
53759-22-1	-1.97	-3.17	6385-58-6	-3.58	-3.59	77-46-3	0.42	-2.08
53-95-2	-0.88	-1.92	64039-27-6	-0.71	-1.69	77500-04-0	-0.34	-2.12
54143-55-4	-0.91	-2.33	64049-29-2	-0.9	-2.26	78246-24-9	-1.94	-1.81
54143-56-5	-0.91	-2.33	64224-21-1	-1.84	-3.16	78441-84-6	1.23	-1.29
54749-90-5	-1.1	-0.6	64519-82-0	-0.02	-1.8	789-61-7	-0.36	-1.38
54-80-8	-0.99	-2.25	6452-71-7	-1.36	-1.96	79520-77-7	-1.39	-2.57
54910-89-3	-1.17	-1.91	6471-49-4	0.72	-1.89	79559-97-0	-1.13	-1.99
54965-24-1	1.11	-1.99	6485-34-3	-1.72	-4.25	8001-35-2	-2.79	-3.52
55557-03-4	-1.18	-2.36	64896-26-0	-1.84	-2.28	8001-50-1	-2.2	-3.42
55567-81-2	-1.09	-2	65089-17-0	-1.04	-1.49	8015-12-1	-0.05	-0.83
555-84-0	-1.27	-2.45	65176-75-2	-0.18	-1.23	8024-37-1	-0.09	-1.17
55600-34-5	-1.7	-2.81	6533-68-2	-1.01	-1.02	8056-92-6	-0.92	-2.34
55721-11-4	-0.06	-0.14 *	65765-07-3	-0.34	-0.51	8065-91-6	-0.26	-0.32
56038-13-2	-0.88	-1.8	67227-55-8	-1.44	-1.98	80702-47-2	-1.49	-1.93
57653-85-7	-1.68	-2.58	6724-53-4	-0.99	-1.1	80830-39-3	-0.34	-2.1
576-68-1	-2.88	-1.8	6731-36-8	-0.47	-1.41	81-21-0	-1.86	-3.25
5800-19-1	0.47	-1.01	67774-32-7	-2.16	-3.55	82586-55-8	-0.84	-2.51
5803-51-0	0.11	-2.37	68006-83-7	-1.04	-2.64	83335-32-4	-3.3	
58139-47-2	-0.56	-2.35	68-76-8	-1.12	-2.88	83480-29-9	-1.99	-1.5
58139-48-3	-0.82	-2.36	69644-85-5	-2.87	-1.73	842-00-2	0.17	-1.11
5834-17-3	-1.01	-2.85	7008-42-6	0.29	-1.97	84504-69-8	-1.58	-3.07
59122-46-2	-1.7		70374-39-9	-0.49	-3.38	84545-30-2	-1.5	-2.24
59333-67-4	-1.17	-1.91	712-68-5	-1.76	-2.31	86315-52-8	-1.36	-2.37
59-35-8	-1.6	-2.74	71835-85-3	-0.12	-0.39	86386-73-4	-1.88	-2
59536-65-1	-1.82	-2.58	720-69-4	-1.74	-3.66	88133-11-3	1.31	-0.9
59721-29-8	0.99	-0.94	72254-58-1	-0.8	-2.36	89226-75-5	2.16	
59820-43-8	-1.4	-1.94	72629-69-7	0.02	-0.72	89667-40-3	-2.01	-0.96
59973-80-7	-1.19	-2.66	72716-75-7	0.01	-0.24	89778-26-7	1.09	-1.77
60102-37-6	0.11	-1.6	7336-20-1	-1.08	-2.93	89778-27-8	1.14	-2.11
61034-40-0	-0.91	-1.66	7347-49-1	-0.75	-2.15	90-49-3	-1.91	-2.7
6109-97-3	-0.67	-2.36	73785-40-7	-1.4	-1.66	91-79-2	-1.21	-2.45
6119-92-2	-0.36	-1.59	75011-65-3	-0.59	-2.58	93957-54-1	0.19	-2.39
6138-79-0	0.16	-1.8	75104-43-7	-0.63	-2.56	94-80-4	-2.28	-2.84
61477-94-9	0.06	-1	75198-31-1	-1.11	-1.73	96515-74-1	0.38	-2.83
6151-25-3	-0.05	-2.28	75659-08-4	-0.9	-1.57	989-51-5	-0.07	-3.89
62450-07-1	-0.8	-2.36	75881-20-8	-1.51		Unknown	-1.68	-2.64
62488-57-7	-0.65	-1.9	76014-81-8	-1.83	-2.08	1143-38-0	-0.78	-2.24
62774-96-3	-0.73	-0.19	76150-91-9	-1.6	-1.63	12225-21-7	-2.41	
63019-65-8	-0.34	-2.29	76180-96-6	-0.74	-2.49	1239-45-8	-0.43	-0.93
632-99-5	0.62	-1.1	76956-02-0	-0.05	0.59	125533-88-2	0.99	0.44

*: ARスコア計算に2pnuモデルを使用した化合物(その他は1t63モデルを使用)
空欄は計算値が得られなかった化合物

CAS No.	ER score	AR score					
1326-03-0	-0.34		5956-60-5	0.71	-0.99	1224-29-9	0.45 -1.46
134678-17-4	-1.25	-1.96	60348-60-9	-1.74	-3.34	1224-28-8	0.45 -1.46
14047-09-7	-1.82	-2.67	6112-76-1	-1.99	-3.35	1126-40-5	-1.17 -2.14
1406-16-2	0.62	-0.35	6201-87-2	-2.73	-4.15	1424-36-8	-1.1 -2.05
143491-57-0	-1.6	-2.67	63-56-9	-0.72	-2.6	19321-38-1	-1.23 -2.23
14375-45-2	-1.81	-2.47	6358-23-2	-1.51	-1.4	2529-06-8	-1.06 -1.97
147127-20-6	-0.36	-1.52	6385-62-2	0.23	-2.1	2566-48-5	-2.34 -3.12
15110-74-4	-0.51	-1.71	64216-20-2	-1.22	-1.57	3127-80-8	-1.17 -2.14
16260-27-8	-2.51		65646-68-6	2.08	-0.66	41199-20-6	-0.12 -1.65
1684-40-8	-1.16	-2.56	6820-54-8	1.54	0.17 *	42846-32-2	-1.17 -2.14
1722-62-9	-0.74	-1.7	68631-49-2	-2.05	-3.26	55030-25-6	-0.54 -0.72
1786-81-8	-1.18	-2.27	7195-43-9	-1.23	-1.22	55538-59-5	-0.32 -1.29
2045-52-5	-0.76	-2.09	7779-16-0	-1.48	-2.12	66072-32-0	0.54 -1.07
2186-24-5	-1.7	-2.25	80147-40-6	-2.41	-3.07	67634-11-1	-1.15 -1.76
2288-13-3	-3.8		80789-74-8	-2.45	-2.29	76649-20-2	-1.18 -1.42
2373-98-0	-0.98	-2.02	94-45-1	-1.44	-2.63	28840-88-2	-1.59 -2.7
2381-21-7	-0.22	-1.73	958-93-0	-1.2	-2.02	28840-87-1	-1.59 -2.7
24169-02-6	-0.84	-0.83	96196-27-9	-0.18	-1.89	64754-06-9	-0.38 -1.95
24346-00-7	-0.8	-0.8	97-24-5	-1.52	-1.67	5888-36-8	-1.89 -2.63
24370-25-0	-1.42	-2.3	17608-41-2	1.66	-0.3	1965-38-4	-1.67 -2.99
2437-29-8	1.6	-1.23	516-95-0	1.66	-0.3	5602-48-2	-1.67 -2.99
2608-48-2	-2.03	-1.64	80-97-7	1.66	-0.3	55881-96-4	-0.17 -1.01
2645-07-0	-2.85	-2.76	515-28-6	-1.74	-2.51	39664-33-0	-0.91 -3.37
29743-15-5	-0.77	-1	69834-10-2	-0.88	-2.15	4631-98-5	0.03 -1.88
29908-03-0	-0.25	-0.21	5957-68-6	-1.74	-2.51	60241-52-3	-0.41 -1.61
309-36-4	-1.32	-1.7	67952-68-5	-1.57	-2.29	6292-20-2	-1.04 -1.86
3129-91-7	-1.4	-1.9	22336-76-1	-1.55	-1.86	10528-67-3	-1.36 -2.31
36791-04-5	-1.46	-2.23	28462-85-3	-1.11	-2.29	20534-58-1	-1.84 -3.46
3682-19-7	-1.22	-2.31	465-31-6	-1.59	-2.35	3901-93-7	-1.52 -2.58
3731-39-3	-0.36	-1.78	512-13-0	-1.44	-1.86	70788-30-6	-0.41 -1.76
38848-76-9	-1.28	0.84	55255-97-5	-1.56	-2.82	824-13-5	-1.34 -3.11
4337-65-9	-2.41		119040-04-9	0.61	-1.11	32383-56-5	-0.07 -1.82
4405-13-4	-0.97	-2.36	71965-26-9	0.26	-0.16	71820-42-3	-0.74 -1
478-43-3	-1.67	-1.98	72987-61-2	-0.94	-2.28	68426-06-2	-1.55 -2.08
480-81-9	-0.09	-1.2	72987-60-1	-0.73	-1.6	63450-10-2	-1.16 -2.05
481-74-3	-1.12	-2.18	21653-20-3	-1.28	-2.08	1331-39-1	-1.71 -2.04
4938-72-1	-1.97	-3.08	695-04-5	-2.05	-2.76	55869-53-9	-0.98 -1.77
52253-69-7	-1.76	-2.66	3284-85-3	-1.28	-2.08	55869-52-8	-0.98 -1.77
52417-22-8	-0.76	-2.01	41299-39-2	-2.04	-2.82	20653-41-2	-0.73 -2.29
530-66-5	-2.36	-3.34	31187-53-8	-1.06	-1.91	4927-40-6	-0.69 -1.61
531-55-5	0.47	-1.52	3080-22-6	1.41	2.12	470-65-5	-1.62 -1.84
531-57-7	-0.39	-1.56	1253-84-5	1.95	-0.03	24945-44-6	-0.62 -1.45

*: ARスコア計算に2pnuモデルを使用した化合物(その他は1t63モデルを使用)
 空欄は計算値が得られなかった化合物

GAS No.	ER score	AR score						
25225-09-6	-1.16	-2	15598-80-8	-1.7	-2.7	1043-10-3	0.18	1.44
3239-02-9	-1.62	-1.84	53067-10-0	-1.49	-1.3	1057-07-4	0.64	-0.68
55000-30-1	-1.43	-0.37	19549-73-6	-1.87	-2.19	107085-84-7	-1.48	-0.73
90414-69-0	-1.97	-2.65	15340-96-2	-1.29	-1.84	1107-99-9	0.17	-0.89
1194-44-1	-1.84	-3.23	597-93-3	-1.69	-2.12	114611-36-8	-0.56	-1.28
80-53-5	-1.49	-2.19	6555-95-9	-1.54	-2.75	1164-91-6	0.17	-0.17
68877-29-2	0.31	-0.78	4017-92-9	-0.93	-2.3	1169-79-5	1.43	-0.84
1193-46-0	-1.87	-3.16	4017-79-2	-0.93	-2.3	1229-06-7	0.63	0.44
16664-07-6	-1.77	-2.82	56335-93-4	-1.86	-2.87	1232-57-1	0.5	1.1
39170-83-7	-1.95	-2.53	56298-90-9	-1.75	-2.26	1235-97-8	-0.06	1.24
39170-84-8	-1.95	-2.53	68480-16-0	-1.09	-2.3	1236-49-3	0.13	-0.16
40564-98-5	-0.72	-2.2	54340-92-0	-1.87	-1.95	1239-29-8	0.4	0.82
42846-29-7	-1.95	-2.53	33933-79-8	-1.87	-2.03	1247-42-3	0.47	-0.08
5454-79-5	-1.95	-2.7	4017-88-3	-0.79	-2.14	125-10-0	-0.71	-0.34
63767-86-2	-1.01	-1.61	6909-21-3	-1.25	-2.41	13103-34-9	0.81	-1.3
63767-87-3	-0.32	-1.34	6909-22-4	-1.25	-2.41	13647-35-3	0.94	0.63
7443-55-2	-1.95	-2.7	4089-03-6	-0.79	-2.14	13698-49-2	-0.17	-0.89
767-12-4	-1.66	-2.64	4017-93-0	-0.79	-2.14	14191-92-5	0.55	-3.07
767-54-4	-1.66	-2.21	7432-49-7	-1.88	-2.64	1420-71-9	0.26	0.9
33978-71-1	-1.92	-1.26	4017-89-4	-0.79	-2.14	1434-85-1	0.49	0.88
10036-15-4	-1.52	-2.42	67810-86-0	-1.96	-2.76	1464-61-5	0.76	0.53
67939-79-1	-1.19	-2.23	1127-51-1	-1.07	-2.24	148613-03-0	1.25	0.34
3623-52-7	-1.17	-2.75	4354-58-9	-1.15	-1.61	1549-15-1	-1.3	-3.67
23333-91-7	-1.15	-2.24	1127-55-5	-1.07	-2.24	1582-75-8	0.44	0.81
4632-01-3	-1.4	-2.48	1127-52-2	-1.07	-2.24	1597-82-6	0.87	0.36
31104-61-7	-1.37	-2.41	84681-91-4	-1.77	-2.24	16463-74-4	0.39	0.38
490-99-3	-1.26	-2.48	1127-53-3	-1.07	-2.24	16915-71-2	-0.08	-0.36
491-01-0	-1.26	-2.48	1127-54-4	-1.07	-2.24	17021-26-0	0.82	1.52
491-02-1	-1.26	-2.48	4884-25-7	-1.36	-1.8	1807-15-4	-0.66	0.12
7214-18-8	-1.56	-2.72	54833-42-0	-0.4	-0.83	1818-13-9	0.54	0.45
5448-22-6	-1.56	-2.72	4884-28-0	-1.83	-2.16	1961-77-9	0.28	0.49
96-07-1	-1.85	-2.67	16510-56-8	-0.78	-2.17	21507-14-2	1.3	1.03
7278-65-1	-0.4	-0.81	1462-06-2	-1.73	-2.71	2152-44-5	-0.08	1.64
55723-92-7	-1.27	-0.85	110458-84-9	-1.2	-2.11	2205-73-4	-0.82	0.58
55723-93-8	-1.28	-0.1	56914-95-5	-0.97	-2.79	2240-28-0	0.4	0.55
21905-45-3	-1.64	-1.22	56942-93-9	-0.97	-2.79	2297-30-5	0.07	-1.17
54280-90-9	-0.99	-2.01	28132-01-6	-0.93	-2.32	2363-58-8	0.55	0.74
69576-81-4	-0.51	-1.59	31308-55-1	-1.35	-1.61	2375-03-3	-1.66	0.46
29548-09-2	-0.92	-2.58	74664-15-6	-1.69	-2.99	24356-94-3	-0.01	-0.88
10036-10-9	-1.68	-2.57	67969-64-6	-0.96	-1.46	25092-41-5	0.79	1.09
10036-08-5	-1.68	-2.57	25144-05-2	-2.05	-2.64	25122-41-2	0.32	0.53
19534-08-8	-1.79	-3.07	1035-77-4	0.6	-0.03	25122-43-4	-1.17	-1.08

*: ARスコア計算に2pnuモデルを使用した化合物(その他は1t63モデルを使用)
空欄は計算値が得られなかった化合物