

する戦略的方向性を示すことができる。代謝のシミュレーションは創薬と毒性評価を結び付ける鍵となると思われ、毒性がある中間体を生成する化学物質を避けることにより製品開発初期の合成 - 試験 - 合成のサイクルを減らす手助けとなると思われる。

化学物質の生体内変化の過程は化学構造とタンパク質の特異的微小環境により制御される。したがって、代謝的変換は種、器官および細胞に特異的である可能性がある。一般化された代謝モデルは、特定の環境における代謝経路の予測の適用範囲が限られていると思われる。これは生物分解の予測に適用できることの方が多と思われる。

Howard および Jaworska et al. は有機化学物質の生物分解性を構造から予測する利用可能なモデルについて調査を行い、親化学物質の消失率を定量的構造 - 生物分解性関係 (QSBR) の主要エンドポイントとした。これらのモデルからは生成される代謝物の本質に対する洞察は得られないため、リスク評価における適用範囲は限られている。特定の条件における化学物質の完全な代謝マップをドラッグデザインと毒性学的応用の主要エンドポイントとする。化学物質のターンオーバー時間をモデリングの重要な副次的エンドポイントとする。生体内変化のモデルは広範囲にわたる多数のニーズに答える必要がある。これらのモデルは、代謝経路 (マップ)、代謝物の分布および半減期、推定される代謝物の相対反応性および (または) 毒性等に関する詳細な情報を提供するものでなければならない。

生体内変化率と代謝マップから得られるデータの広範囲にわたる適用範囲内で、コンピュータによる多様なアプローチが文献

で報告されている。これらの方法は、モデルのメカニズム的解釈、構造解明度、透明性、統計的アプローチの複雑さのレベル、使用した代謝データの出典、大規模な化学的明細目録への適用性など、その能力を評価する基準に基づいて精査され分類されている。これらの基準に基づき、明示的メカニズム解析方法、グループ寄与法、統計的方法、ルールベース法およびハイブリッド法の 5 種類の方法を確認し、予測モデルを検討した。

### 3.1.2 方法：実践的 TIMES モデリングの枠組

これまでの知見を参考にして、生体内変換反応の最新の知見に基づき、また個々の種の皮膚、肝臓、消化管などの特定の代謝環境に対してカスタマイズできる *in silico* シミュレータ代謝の数理的形式である TIMES を提示する。このシミュレータは生成した代謝物の優先順位を客観的に決定することができる。それは特定の代謝物の毒性を予測する根拠となり得るものである。

#### a) 組織代謝シミュレータ (TIMES) : 数理的形式

CATABOL に使用する単一経路蓋然論スキームを再公式化し、分子の変換の多経路マップを作成した。多経路スキームは、化学物質があまり蓋然的ではない多数の経路に加えて最も蓋然的な経路に沿って代謝されるという事実を条件とした。酵素を介する特定の反応は、酵素の役割が明確にコード化される主要な分子の変換により表わされる。各分子の変換は親化合物の分子下の断片、変換生成物および禁制反応などの要素からなる。後者のこれらの禁制反応は、

既知の断片が親化学物質内に存在する場合に親化学物質における変換の実行を妨げる反応阻害剤の役割を果たす。代謝反応を促進または阻害できる基が存在すると、主要な変換の数が著しく増加する。中間代謝および特殊代謝において知られている有機官能基の数は 60 に満たないが、生じる可能性がある多官能化合物の反応は無数にある。位置異性も組み合わせを急増させる。本事例研究は我々が開発した肝代謝シミュレータについてであるが、これを代謝活性化のモデル化のために使用し化学物質の変異原性を予測している。現在、341 の主要な変換が肝臓における代謝シミュレーションのために使用されている。発現の確率は各々の主変換の結果とみなされ、変換リスト内の序列は主変換によって決まる。これらの確率は、提供された代謝マップの再現性が最適になるように専門家により設定される。変換およびその序列の確率推定値をわずかに変化させることによって、別の経路と代謝生成物が生じる可能性がある。シミュレータの性能を絶えず点検し、実測マップと生成させたマップ間の平均類似性を最大化した。

変換を非律速反応と律速反応の 2 つの種

類に大別した。第一種には 40 の非生物反応と酵素により制御される反応が含まれるが、酵素により制御される反応は試験期間と比較して極めて速い速度でおこる。ハロゲン化アシルの脱ハロゲン化、ハロゲン化ジェミナルチオール、ジェミナルハロヒドリンの脱ハロゲン化、N-ニトロソアミンの酸化的 N 脱アルキル化、イミドの加水分解、硫酸の S 酸化などの反応性が極めて高い基や中間体の変換がここに含まれる。互変異性などの様々な化学平衡の過程もこの種類の変換に含まれる。第二種の反応には、酸化反応、酸化還元反応、還元反応、加水分解反応、合成反応などの 301 の代謝変換が含まれる。類似の酵素反応 (類似した標的を持つ) を一緒にグループ化し、確率が同一であると仮定した。同じ確率の各変換サブセット内の序列は隣接する置換基の作用を反映することができる。

最初に、階層的順序で並べた変換リストに親化学物質を載せる。第一レベルのリストの代謝物を生じる親化学物質について、関連がある部分構造に適合するすべての変換を実行する。次に階層的順序で並べた変換の同一リストにこれらの代謝物の各々を載せ、第二レベルの代謝物を得る。

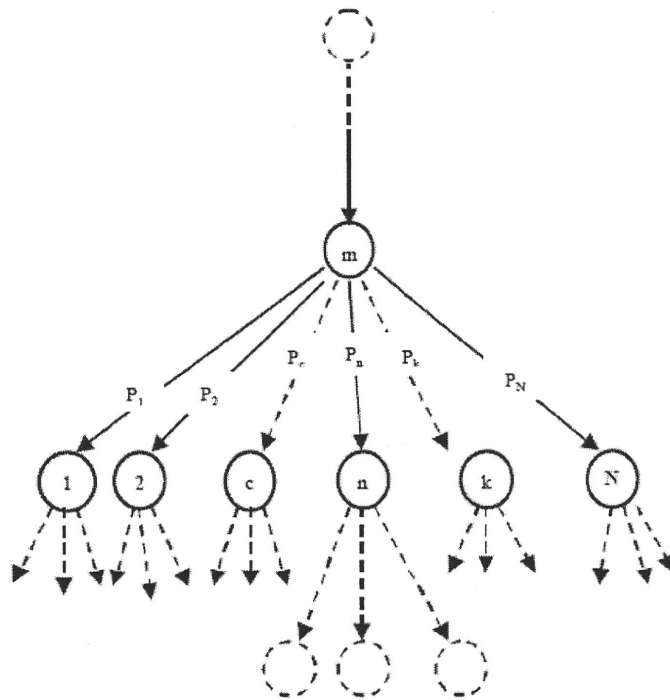


Fig. (1). Illustration of m-th level of metabolic pathway generation.

図(1)に1つのレベルの代謝経路の生成を示す。数式的形式は、変換が逐次的におこる、すなわち、確率  $P_n$  の最も蓋然的な変換が最初に1つの親分子に適用され、次に、代謝されていない残りの親分子  $[mo]$  ( $1 \cdot P_n$ ) がより低い確率 ( $P_k < P_n$ ) で2番目の変換を受け、続いて残りの分子(確率がより低い、 $P_c < P_k < P_n$ ) に3番目の変換が適用されるという仮定に基づく。生じる可能性があるすべての変換が適用された結果として生じた代謝されていない分子量は、次の確率分布表現により得られる。

$$[m] = [mo] \{1 \cdot P_n \cdot P_k (1 \cdot P_n) \cdot P_c [1 \cdot P_n \cdot P_k (1 \cdot P_n)] \dots\} = [mo] (1 \cdot P_n \cdot P_k \cdot P_c \dots + P_n P_k + P_n P_c + P_k P_c + \dots \cdot P_n P_k P_c \dots)$$

(1)

ここで  $[mo]$  および  $[m]$  はそれぞれ、親化学物質の最初のモル数および代謝され

ていない親化学物質のモル数である。

この式は変換の順序によって変化しない。例えば、 $c$  に対する変換が最初に実行され、次に  $n$  に対する変換がおこる。言い換えれば、最後の2式は変換産物に関して対称である。続いて、代謝された分子の量を次の項で表わすことができる。

$$[mo] \cdot [m] = [mo] (P_n + P_k + P_c \dots \cdot P_n P_k \cdot P_n P_c \cdot P_k P_c \dots + P_n P_k P_c \dots)$$

(2)

対応する反応の確率に比例してこの量が生成物  $n$ ,  $k$ ,  $c$  などに変換されると仮定すると、生成物  $n$ ,  $k$ ,  $c$  などの量を以下の式で記述することができる。

$$[n] = [mo] (P_n + P_k + P_c \dots \cdot P_n P_k \cdot P_n P_c \cdot P_k P_c \dots + P_n P_k P_c \dots) (P_n / (P_n + P_k + P_c))$$

(3)

$$[c] = [mo] (P_n + P_k + P_c \dots \cdot P_n P_k \cdot P_n P_c \cdot P_k P_c \dots + P_n P_k P_c \dots)$$

$$(P_c / (P_n + P_k + P_c)) \quad (4)$$

$$[k] = [m_o] (P_n + P_k + P_c \dots - P_n P_k - P_n P_c - P_k P_c \dots + P_n P_k P_c + \dots)$$

$$(P_k / (P_n + P_k + P_c)) \quad (5)$$

すべての変換生成物のマスバランスから次の等式が得られる。

$$[m_o] = [n] + [c] + [k] + \dots + [m]$$

(6)

一般化された代謝変換スキーム (図 1) に従って先行代謝物 m から n が生じる確率は、m が得られる確率と m が代謝されて n になる確率の積として表わすことができる。

$$P(m \rightarrow n) = P(m \rightarrow m) P(m \rightarrow n) = P(m \rightarrow m) \left[ 1 - \prod_{i=1}^N (1 - P_i) \right] \frac{P_n}{\sum_{i=1}^N P_i}$$

ここで P (→n) および P (→m) はそれぞれ、親化学物質から n および m が得られる確率であり、また

$$P(m \rightarrow n) = \left[ 1 - \prod_{i=1}^N (1 - P_i) \right] \frac{P_n}{\sum_{i=1}^N P_i}$$

は、m が n に代謝される確率である。

親化学物質からの全経路を通じた変換と代謝物「n」を得る確率を定量する能力との間に確立された序列によって、生成させた代謝経路の拡大に制約を課すことができる。代謝マップの拡大を抑制するもう 1 つのユーザーにより規定される制約は代謝物の疎水性であるが、これは代謝木の構築と同時に算出される。続いて、ユーザーにより規定された代謝物を得る確率の閾値 (式 7) および (または) 疎水性 (log K<sub>ow</sub>) に到達するまで、代謝木作成の過程は継続される。代謝木の拡大は、グルクロン酸抱合や硫酸抱合などのフェーズ II の反応が発現した場

合にも中断される可能性がある。代謝木の拡大を中断する自動化されたツールのうち、酸化還元サイクルなどの周期的 (反復) 過程の妨害についても言及できると思われる。

代謝物が重複して生成すること自体は、他のシステムの場合のように代謝木の拡大を妨げる理由ではない。別の経路によって同一の重複代謝物が生成する可能性があり、この情報は代謝物の総量の算出に利用される (さもなければマスバランスが無視される可能性がある)。生成させたマップの視覚化を改善するため、このシステムでは重複した枝を切り落とすことができ、また確率が最も高い特定の経路数を描き出すことができる。

TIMES の主要産物は親化学物質の代謝マップであり、これによって、トレーニングセットに使用する特定組織から予期される経験的結果のシミュレーションを行う。ユーザーは、シミュレーションで得られた代謝マップの信頼性 (R<sub>Map</sub>) と予測された各代謝物の信頼性 (R<sub>Met</sub>) の推定値を得ることができる。また TIMES は、代謝物生成とその後の生体内変化の確率に関して、代謝物の相対的存在度 [親化合物 1 モル当たりのモル数] と各代謝物の相対的安定性を推定する。TIMES は、有害な可能性がある中間体を同定するため、各代謝物の物理化学的性質と毒性の推定値を提供するモデリングエンジンと QSAR ライブラリーとにより完全に統合される。

#### b) TIMES の性能の定量的評価

実測代謝マップに関する公開情報と TIMES の経路との間の関係を推定するため、類似性尺度 (SM) を次のように定義した。

$$SM = wM + (1-w)Q \quad (9)$$

ここで  $w$  は 2 種の類似性推定値の間のバランスをとる重み付けパラメータである。 $M$  [%] は実測マップ内に認められた予測代謝物数と予測代謝物の総数との比率である。 $Q$  は実測マップ中の対応する代謝物を含む予測代謝物の量と生成されたすべての代謝物の量の比率である。類似性尺度  $M$  は実測マップの再現性の度合いを表しており、 $Q$  は生成させたマップの過剰拡大の度合いを評価する。続いて、実測マップを最もよく再現できるように（すなわち  $M$  を最大化するように）、また追加的に生成された代謝物の量を少なくするように（すなわち  $Q$  を最小化するように） $SM$  を算出する。

TIMES の真度を評価する難しさの 1 つは、分析能力が原因で、特に中間体が短命なため、ほとんどの代謝マップが不完全であるということである。従って、報告されていない多くの推定的中間体が存在する可能性はあるものの、実測マップを様々な経路が存在することの傍証とみなさなければならぬ。トレーニングセット用の実測マップと同一化学物質について生成させたマップを比較することによって、主要な化学物質種に関する代謝シミュレータの性能を評価することができる。

#### c) TIMES の適用可能性範囲

トレーニングセットに基づいて所定の代謝シミュレータにより得られた予測の信頼性を評価するため、新しい蓋然論的評価が導入されている。QSAR 法の適用可能性範囲は、トレーニングセットとそのモデルを適用する化学物質の領域との間の不均一性の比較である。適用可能性範囲を評価する

1 つの方法は、実測マップと生成させたマップを比較し、シミュレータの個々の ( $i$  番目の) 変換が生成させたマップ内の実測代謝物を産生する時点数 ( $\sum \text{Pos}(i)$ ) と、この変換によって実測代謝物を産生することができない時点数 ( $\sum \text{Neg}(i)$ ) を記録することである。続いて、 $i$  番目の変換の信頼性が以下の比率によって評価できた。

$$R_{tr}^i = \frac{\sum \text{Pos}(i)}{\sum \text{Neg}(i) + \sum \text{Pos}(i)} \quad (10)$$

同様に、予測される代謝物の信頼性を親化学物質と代謝物との間の経路横断的変換信頼性 ( $R_{tr}$ ) の積により評価できた。

$$R_{tr}^i = \frac{\sum \text{Pos}(i)}{\sum \text{Neg}(i) + \sum \text{Pos}(i)} \quad (10)$$

ここで、 $L$  は代謝木横断的代謝変換のレベルである（親化学物質の場合  $L=1$ ）。

事実、 $R_m$  は生成させたマップにおける交点の信頼性の推定値である。異なる経路により同一の代謝物を得られる可能性がある（すなわち、マップの異なる交点で生成する）と仮定し、信頼性が最も高い経路の推定値  $R_{m}^{\text{Max}}$  と最も低い経路の推定値  $R_{m}^{\text{Min}}$  を導入した。同様に、最大量の対象代謝物を得られる交点の信頼性を評価するため  $R_{m}^{\text{MaxAmount}}$  を導入した。

#### d) 変異原性モデル

TIMES をさらに評価するため、我々は高分子の化学反応性モデルと TIMES システムを統合し、活性化代謝物（想定されることが多い）のシミュレーションを行う TIMES の能力を実証した。この評価は Procter & Gamble 社の遺伝毒性/発癌性データベースから得られたデータに基づくものであった。このデータベースは、サルモネラ菌を用いたエームス変異原性試験、

*in vitro* および *in vivo* 細胞遺伝学、哺乳動物細胞の突然変異試験およびげっ歯類における発癌性などの試験で検査された 17,000 個の化学物質を含む。NTP によりサルモネラ菌を用いて検討された 1196 個の化学物質のサブセットが、さらに大きなデータベースから選択された。これらの化学物質のうちの 148 物質が S-9 を用いない場合に TA100 株で陽性を示した。力価の半定量的尺度を各化学物質に割当てた。化学物質を陰性 (-)、疑わしい (?) または弱陽性 (1+, 2+, 3+, 4+) に分類し、それぞれの作用が対照と比較して 2n 倍の増加に相当する。菌株の識別は絶対的なものではないため、強いフレームシフトを示す突然変異原を塩基対型突然変異原と識別するためには力価の値が重要であった。この試験で疑わしい変異原性物質は不活性として取扱ったが、弱陽性は 1+ の活性として扱った。また、S-9 酵素系で活性化した場合に限り TA100 株に対する変異原性を示す化学物質を含む 188 個の化学物質からなるもう 1 つのトレーニングセットを作製した。このトレーニングセットは、代謝シミュレータをトレーニングし化学物質の代謝活性化を予測するために使用した。得られた変異原性モデルを外部でバリデーションするための 36 個の化学物質の追加セットを本調査に含めた。これまでに、COREPA 法を用いて遺伝毒性化学物質の変異原性を推定する QSAR モデルが提示されている。変異原性用の COREPA モデルは、分子の立体構造と電子構造 (すなわち EGAP) の包括的記述子と特定の警告グループに関連した局所反応性パラメータを併用する。決定樹の枝のロジカルボックスに現われる反応性パラメ

ータは、ニトロソ基の窒素原子やカルボニル基の環状 C 原子の局所的求電子性などの陽電荷要件と関連している可能性がある。これに対して、N {H} 基や C{H3} 基に結合した C 原子や二重結合による O 原子の陽電荷要件を認識できる。Van der Waals 表面の要件 VdWsurf も両決定樹枝の末端で導入された。E1 反応 (SE1 および AdE1) に関連した 2D 構造要件は決定樹の枝の一方に現われる。ここで、求電子的メカニズムにより究極的作用を誘発するカルベニウムイオンやニトレンウムイオンの前駆体である反応性断片が認められる。これらの反応の律速段階は反応性が高いこれらの中間体の生成であり、次にこれらの中間体に変異原性の単分子性・求電子性メカニズム (SE1 や AdE1 など) を決定する。

### 3.1.3 結果、考察

本研究で開発した S9 代謝シミュレータの性能を評価するため、179 個の化学物質のコレクションとラット肝臓の代謝マップの資料を用いた。主な変換の発現とそれらの序列の確立の間に、類似性尺度 SM (式 9) を目的関数として使用した。変異原性が最も高い代謝物は半減期が極めて短く反応性が極めて高い分子種であるため、実験的に観察されることは稀で、代謝マップの資料には通常現われない。したがって、観察された代謝物の枠内にマップの拡大を制限しようとするれば、生成する可能性がある反応性代謝物のシミュレータが得られなくなると思われる。この問題を避けるため、本研究では重み付けパラメータ  $w$  を 1 に設定し、類似性尺度の平均値を次のように算出した。

$$\text{平均類似性} = (\sum iMi) / n \text{ [\%]}$$

(14)

変異原性のメカニズム的 QSAR 法は、代謝により「活性化」され、反応性中間体が生成しなければ多くの化学物質が変異原性を示さないという事実によって妨害されている。そこで、大規模な変異原性データベースの多変量モデルで、化学反応性モデルを最終的に反応性化学物質に生体内変換される可能性がある非反応性化学物質内の部分構造の化学反応性モデルと併用した。代謝過程の複雑さと比較して体系的データは極めて少ないため、そのような多変量モデルの混合が信頼性を改善できるとは思えない。この研究は、化学物質の主要代謝経路をシミュレーションし、観察された代謝物間の妥当性が高い中間代謝物を得る方法を開発した。次に、細胞内求核基に対する親化学物質と代謝物の反応性を、それらの反応が変異原性に関与するという仮定の下で推定した。変異原性データベースは代謝シミュレータの信頼性の間接的尺度であると推定される。

文献および主要な変換セットの解析の結果、変異原性代謝物の前駆体は芳香族化合物かヘテロ原子を含む系のいずれかであることが分かった。このような特性を持たない化学物質は代謝により変異原性を持つ分子種にならないと思われる。これらの構造的要件を用いて、酵素的に変異原性を持つ代謝物に変換される可能性がある化学物質を同定する簡単な予備スクリーニング法を開発した。この予備スクリーニング規定に合格した化学物質を TIMES にゆだね、S9 による代謝の予測を行った。決定樹を用いて、親脂溶性 log KOW が-4 を超える生成させたすべての代謝物の変異原性のスクリ

ーニングを行った。陽性の活性は、変異原性を示す代謝物を 1 つ以上持つ親化学物質に起因するとみなされた。S-9 酵素系による代謝活性化後、TA100 株に対して変異原性を示さない化学物質 860 個に同一の手法を適用した。

得られた決定樹により、S9 酵素系による代謝活性化を行わない場合に 148 個中 121 個の化学物質の変異原性が適正に予測されるが、これは 82%の感度 (Sensitivity) に相当する。変異原性を示さない化学物質でさらに良好な結果が得られた。1049 個の変異原性を示さない化学物質のうちの 983 個が適正に分類され、特異性 (Specificity) は 94%であった。トレーニングセット内のさらに高い割合の非変異原性物質で一致 (Concordance) がみられ、これは特異性とほぼ同様である(94%)。感度が特異性に比べ低いことは、弱陽性反応 (6 化学物質) と 1+に指定された低活性 (37 化学物質) のカテゴリに関連した実験データの信頼性により説明できる。これは活性が 2+以上の化学物質では感度の改善 (86%) がみられたことから確認される。

モデル構築過程で使用していない TA100 株に対する 36 個の変異原性物質の変異原性を予測することによって、開発した決定樹の予知力を評価した。36 個の変異原性化学物質のうちの 21 個が適正に分類され、これは約 60%の感度に相当する。感度の低さは主としてモデルの外挿範囲の予測に起因する。適正に分類されなかった 15 個の変異原性物質中の 5 個はモデルの内挿範囲外にあり、保証が 0%であった。これらの化学物質を除けば、決定樹の予知力  $Pr(P+/- | T+/-)$  は 68%となった。この特異

性はモデル適合性よりも低い、決定樹はその適用可能性の範囲内で約 70%の変異原性物質を適正に同定することができる。

変異原性の予備的なモデルを確立した後、同一モデルを用いて 188 化学物質の変異原性を評価したところ、これらの化学物質は S9 活性化後の TA100 株による試験で変異原性を示した。しかし、QSAR モデルでは、代謝シミュレータから生成させた 188 個の化学物質の反応性代謝物を評価した。この解析で 2 つの有望な所見が得られた。シミュレータのデータベースが限られているにもかかわらず、このモデルによって変異原性があると予測された代謝物が不活性化化学物質の 77%で認められた。我々は、このモデルと代謝シミュレータの両者を改善することにより潜在する変異原性物質の確認の信頼性が改善されると確信している。また、S9 活性化後でも TA100 で真に陰性であった 860 個中 223 個の化学物質でシミュレーションにより変異原性を有する代謝物が予測されることが予備的な解析で確認された。TA100 で陰性であったが TIMES シミュレータにより活性があるとされたこれらの化学物質の解析で、これらの「擬陽性」のうちの 92 が他の遺伝毒性試験や発癌性試験で陽性であった。遺伝毒性試験で陰性であった他の 67 個および 38 個の化学物質のデータは得られていない。代謝シミュレータにより合理的な反応性代謝物が生成されており、これらの代謝物は TA100 試験では反応性毒性に対する感受性がないとしても、一部の種や試験条件では遺伝毒性が認められるはずであると結論付けた。

### 3.2 TIMES による *in vitro* 染色体異常の

予測と、*in vivo* 小核試験の予測への応用

#### 3.2.1 はじめに

エームス試験のような直接的な DNA 相互作用のモデルと異なり、染色体異常 (CA) を検出する遺伝毒性試験では、モデル開発のプロセスがより複雑である。この試験は実験的に標準化されているが、エームス試験よりも程度は低く、公的に利用可能な実験データはエームス試験に関するデータと比較し著しく少ない。さらに、化合物と DNA の直接的相互作用に加え、化合物と DNA 複製及び転写に関与する酵素、及び染色体分配に関与するその他の核タンパク質 (例、ヒストンタンパク質) との相互作用などのその他のメカニズムも構造的 CA を引き起こす場合がある。染色体異常は、分裂中期における染色体の構造的特性の結果として観察可能となり、構造的又は数的異常として登録される。これらすべての問題点にも関わらず、CA を引き起こす化合物の可能性をモデル化する試みにおいて、多様な計算的アプローチが使用されている。これまで、DNA との共有結合的相互作用に関して過去に作成されているモデルを、染色体異常誘発活性を引き起こすタンパク質との付加的な相互作用のメカニズムを説明付けるために新規に作成されたモデルと組み合わせることにより、*in vitro* での CA を予測する方法を開発してきた。

しかしながら、我々の最終的な研究の目標は、*in vivo* 遺伝毒性の予測であり、当面の目標は遺伝毒性の予測に関して *in vitro* と *in vivo* の間に存在するギャップを埋めることである。そのためには *in vivo* での影響を正しく理解し、その影響を説明しうる信頼性の高いモデルを構築することが必要であ



る。*In vivo* 遺伝毒性試験として、同じ化学物質に関して *in vivo* (肝臓) 遺伝毒性試験結果と、*in vivo* 骨髄小核試験データを多量に収集し、その結果を精査することが重要である。これら信頼できる試験データから、以下のポイントを明らかにして *in vivo* モデルを考える。(a) *in vitro* 試験結果を、そのまま *in vivo* (肝臓) 遺伝毒性試験結果に拡張できるかどうか。すなわち、*in vivo* で解毒プロセスの考慮、(b) *in vivo* (肝臓) 遺伝毒性試験結果を、*in vivo* 骨髄小核試験結果に適応できるかどうか。すなわち離れた場所では遺伝毒性が発現しないような生物学的枯渇効果の考慮、(c) *in vitro* で遺伝毒性がないのに、*in vivo* で遺伝毒性が発現するか。すなわち *in vivo* 特異的生物学的活性化効果の考慮、である。これら問題の解決は、遺伝毒性の発現メカニズムの理解に重要なだけでなく、異なったレベルの生体の遺伝毒性影響(すなわち、生体内での代謝、薬物動態が関係する)の相互作用を理解することに繋がる。本年度は、国立衛研、ブルガス大が収集した *in vivo* 小核試験のデータの精査と、*in vitro* CA モデルによる小核試験の予測を行った。

### 3.2.2 方法：*in vivo* 小核試験データ

ブルガス大学では、NTP データベース、日本の既存化学物質データベース、PubMed で検索した試験研究論文等より 557 の *in vivo* 小核試験結果データを持つ化学物質を得た。

1. このうち *in vitro* 試験データを持つものが 476 (DB1)
  - *In vitro* 陽性のもの：324
  - *In vitro* 陰性のもの：139

- *In vitro* 試験結果が inconclusive のもの：13

また、557 化合物のうち 308 は *in vivo* 肝臓での遺伝毒性試験データなかった

2. *In vivo* 肝臓での遺伝毒性試験データないもの 308 (DB2)

- *In vitro* 陽性のもの：147
- *In vitro* 陰性のもの：84
- ✧ このうち *in vivo* MN が陽性のもの：27
- *In vitro* データがないもの：75
- *In vitro* 試験結果が inconclusive のもの：2

### 3.2.3 結果、及び考察

*In vitro* と *in vivo* の試験データのギャップ、および肝臓と骨髄の試験データのギャップを埋めるために重要な化学物質は、*in vivo* 骨髄 MN が陽性で、*in vitro* 遺伝毒性試験が陰性の報告がある 27 化合物である(表 1)。この 27 化合物について *in vivo* 肝臓での遺伝毒性試験の再検索を行った。3 化合物について新たに試験データが得られたが、残り 24 化合物はデータがなかった。これら化合物のデータはモデルの構築に重要であることから、自ら試験を行い、肝臓での遺伝毒性を評価する必要があると考えられる。また、27 化合物は *in vivo* 骨髄小核陽性との報告であるが、上位 5 つの化合物について複数の報告をピアレビューした結果、専門家の判断では陰性と判定された。ブルガス大学のデータ評価者は遺伝毒性専門家ではないため、今後既存の報告データに関しても、エキスパートジャッジが必要と考えられる。

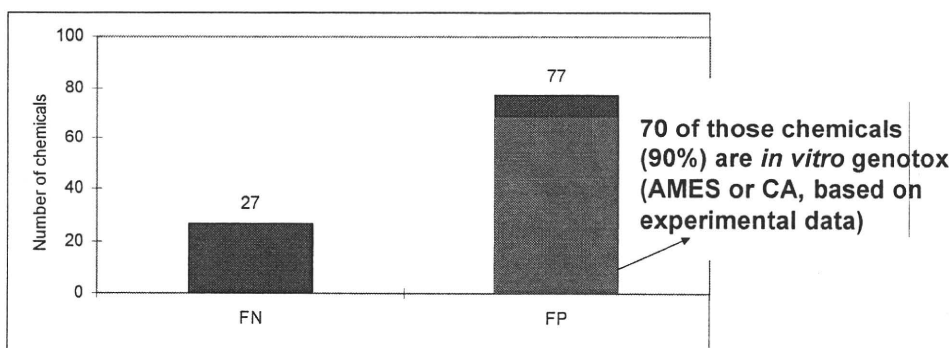
No.	CAS	Name	Result	Endpoint	Reference
1	87-61-6	1,2,3-TRICHLOROBENZENE	*		No data
2	120-82-1	1,2,4-TRICHLOROBENZENE	*		No data
3	108-70-3	1,3,5-TRICHLOROBENZENE	*		No data
4	541-73-1	1,3-DICHLOROBENZENE	*		No data
5	94-75-7	2,4-D	*	Liver UDS	Charles et al., Mutat. Res., 444, 207-216, 1999.
6	116-06-3	2-methyl-2-(methylthio)propionaldehyde			No data
7	1838-94-4	3,4-epoxy-3-methyl-1-butene			No data
8	34381-68-5	ACEBUTOLOL			No data
9	103-84-4	Acetanilide			No data
10	1912-24-9	atrazine	+	Comet	Singh, M., Kaur, P., Sandhir, R. and Kiran, R. (2008) Protective effects of vitamin E against atrazine-induced genotoxicity in rats. Mutat. Res., 654, 145-149.
11	2832-19-1	CHLORACETAMIDE-N-METHANOL			No data
12	79-11-8	Chloroacetic acid			No data
13	108-90-7	CHLOROBENZENE			No data
14	56-72-4	Coumaphos			No data
15	52918-63-5	Deltamethrin			No data
16	56-53-1	DIETHYLSTILBESTROL	-	TG	Kohara (Doctor thesis 2002 in NIHS)
17	60-13-9	di-Amphetamine sulfate			No data
18	1070-11-7	ETHAMBUTOL HYDROCHLORIDE			No data
19	76-43-7	Fluoxymesterone			No data
20	39148-24-8	Fosetyl-Al			No data
21	53-86-1	INDOMETHACIN			No data
22	624-83-9	METHYL ISOCYANATE			No data
23	20702-77-6	NEOHESPERIDIN DIHYDROCHALCONE			No data
24	2058-46-0	Oxytetracycline.HCl			No data
25	127-47-9	Retinol acetate			No data
26	440-17-5	TRIFLUOPERAZINE HYDROCHLORIDE			No data
27	115-96-8	TRIS(2-CHLOROETHYL) PHOSPHATE			No data

\*: In vivo MN in BM negative by Morita's survey.

表 1

ブルガス大学の Mekenyan 博士らの開発した TIMES モデルには 220 のラット *in vivo* の文献上の薬物代謝経路と、467 の非酵素的小および酵素的反応による化学物質代謝物を予想することができる。OASIS との組み合わせによる *in vitro* CA 予測モデルによる、*in vivo* 小核試験の予測率は感度 (Sensitivity)

76%、特異性 (Specificity) 37%であった。特に低い特異性は擬陽性(FP)となる化学物質が多いことを示している。擬陽性を示した 77 の化学物質のうち 70 は *in vitro* 試験陽性化合物であり、これら化合物の予測には *in vivo* での解毒のロジックが必要である (図 2)。



The above statistics holds for chemicals having both *in vitro* and *in vivo* GT data

図 2

また、*in vitro*、*in vivo* の全てのデータがそろった 162 化合物の試験結果のフローを図 3 に示す。*In vivo* での Bioactivation (*in vivo* 特異的な代謝活性化) および、Bioexhausting を考慮しても、図中に赤で示した試験結果は説明することができない。これら矛盾する試験結果の原因としては以下のことが考

えられる。A) 既存試験結果の信頼性；試験結果の多くは学術論文データであり、GLP 等の基準に従って試験されたものでないため、結果の最終的判定に疑問が残る。試験結果に関しては、専門家によるピアレビューが必要と考える。

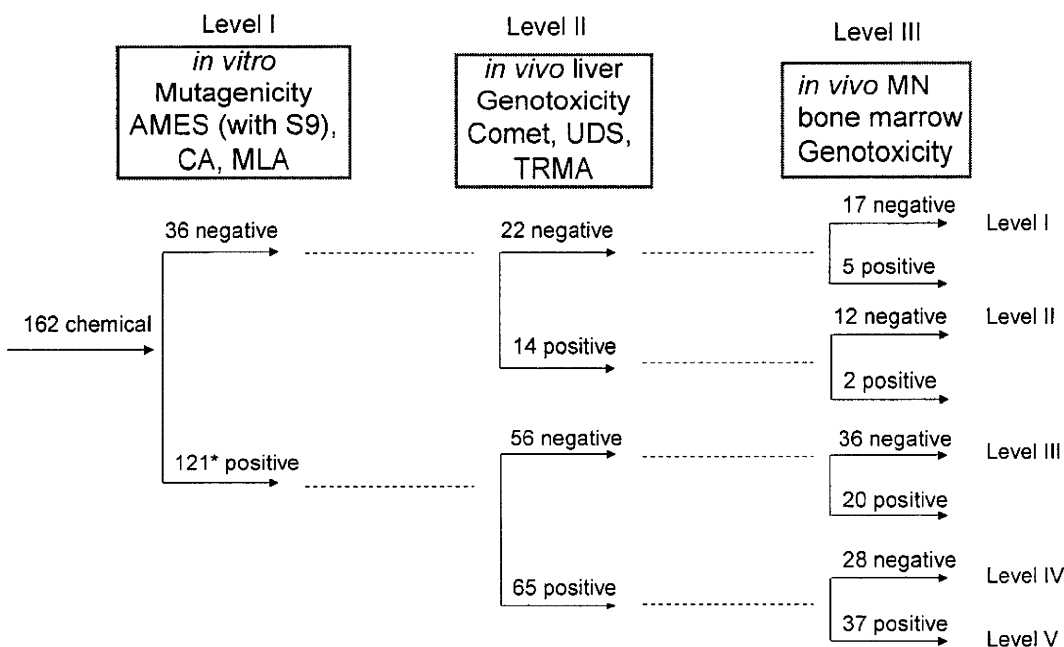


図 3

B) *In vivo* 肝臓でのデータは Comet、UDS がほとんどであり、小核試験とエンドポイントが異なる。エンドポイントの違いは、遺伝毒性発現のメカニズムの違いであり、可能であれば同一エンドポイントでの比較が、モデルの単純化に重要である。肝臓に関しても小核試験データを尊重すべきであり、今後、新たなデータは小核試験を優先して行う必要がある。(C) Bioactivation、Bioexhausting 以外のファクターを *in vivo* モデルに考慮する必要がある。

今後、ブルガス大学と協力し、既存デー

タの精査や、Key 化合物遺伝毒性データの提供などを行い、OASIS/TIMES による *in vivo* 小核試験予測モデルの改良を行う。

## 研究発表

### 1. 論文発表

- ① 本間正充 構造活性相関による遺伝毒性の予測 国立医薬品食品研究所報告 128, 39-43 (2010)
- ② Sheila Galloway, Elisabeth Lorge, Marilyn J. Aardema, David Eastmond, Mick Fellows, Bob Heflich, David

Kirkland, Dan D. Levy, Anthony Lynch, Daniel Marzin, Takeshi Morita, Maik Schuler, Günter Speit: Workshop summary: Top concentration for in vitro mammalian cell genotoxicity assays; and Report from working group on toxicity measures and top concentration for in vitro cytogenetics assays (chromosome aberrations and micronucleus), Mutation Research, 2011(in press).

- ③ R. Kikura-Hanajiri, M. Kawamura, A. Miyajima, M. Sunouchi, Y. Goda. Determination of a new designer drug, N-hydroxy-3,4-methylenedioxymethamphetamine and its metabolites in rats using ultra-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometer. (2010) Forensic Sci. 198, 62-69.

## 2. 学会発表

- ① Mekenyan, O., Ptkov, P., Todorov, M., Kotov, S., Stoeva, S., Dimitrov, S., Honma, M., Hayashi, M., Benigni, R.; Modeling in vivo micronucleus test by simulating detoxification pathways. QSAR2010, (2010.5)
- ② 本間 正充 ; 遺伝毒性試験とその科学的リレバンス 第 11 回日本トキシコロジー学会生涯教育講演会 (2010.6)
- ③ 本間 正充 ; リスク評価における in vitro 遺伝毒性試験の役割 第 37 回日本トキシコロジー学会学術年会

(2010.6)

- ④ 森田 健、森川 馨 : GHS 分類における専門家判断の適用、第 37 回日本トキシコロジー学会、沖縄、2010.6
- ⑤ 森田 健、本間正充、福島久美子、森川 馨 : In vitro 染色体異常試験における 1 mM の上限濃度は一般化学物質においても許容できるか? 第 39 回日本環境変異原学会、つくば、2010.11
- ⑥ 森田 健、本間正充、森川 馨 : 一般化学物質における哺乳類培養細胞を用いる遺伝毒性試験の最高濃度、日本薬学会第 131 年会、静岡、2011.03
- ⑦ 宇佐見誠、宮島敦子、満長克祥、簾内桃子、関野祐子 ラット着床胚におけるタンパク質ジスルフィドイソメラーゼのチャージバリエーション発現に関する研究 第 37 回日本トキシコロジー学会学術年会 (2010.6)
- ⑧ 松岡厚子、宮島敦子、加藤玲子、酒井恵子、高久彩子、谷口彰良 各種細胞毒性試験のナノ粒子に対する感受性 環境変異原学会 第 39 回大会 (2010.11)
- ⑨ M. Sunouchi, A. Miyajima-Tabata, R. Kikura-Hanajiri, Y. Goda O- and N-demethylation of levomethorphan by human cytochrome P450 enzymes., The 50th Annual Meeting of the Society of Toxicology (2011.3)

平成 22 年度厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）  
分担研究報告書

化学物質リスク評価における(定量的)構造活性相関((Q)SAR)およびカテゴリーアプローチ  
の実用化に関する研究（H21-化学-一般-002）

反復投与毒性及び遺伝毒性を指標にした構造活性相関手法構築  
及び安全性評価における利用に関する研究

研究分担者 広瀬 明彦 国立医薬品食品衛生研究所 総合評価研究室室長  
研究分担者 林 真 食品農医薬品安全性評価センター センター長  
研究分担者 江馬 眞 産業技術総合研究所安全科学研究部門 研究員  
研究協力者 宮地 繁樹 (財)化学物質評価研究機構 安全性評価技術研究所 主任  
研究協力者 茂木 邦夫 (株)シーティシー・ラボラトリーシステムズ

#### 要旨

既存化学物質安全性点検データ及び関連する文献情報をもとに反復毒性試験における標的臓器毒性(脾臓、骨髄、および、甲状腺毒性)について、Derek システムのための Rapid Prototype アラートの構築を行い、各毒性それぞれについて 4 種のアラート構築に成功した。一方、in vivo 染色体異常予測の被覆率の改善に関して in vivo 小核試験データセットを用いて、in vitro 染色体異常予測アラートについて検討した結果、in vivo 染色体異常をカバーするのに適した 7 種の in vitro 染色体異常予測アラートが特定された。さらに文献情報の調査等により、6 種の in vivo 染色体異常アラートが構築された。安全性評価における構造活性相関手法の利用の検討のためジメチルアニリンの構造異性体 6 物質における物理化学的性状に関し、文献調査を行うとともに、必要に応じて構造活性相関手法を用いて推定を行った結果、これら 6 異性体をカテゴリーとして評価することの妥当性が示され、検討結果をもとに経済協力開発機構の高生産量既存化学物質点検プログラムにおける SIAP、SIAR 及び IUCLID Dossier を作成した。

#### 標的臓器毒性予測に対する被覆率を向上させるための新規Derek for WindowsアラートおよびRapid Prototypeアラートの開発 序論

DfW<sup>1</sup> は、毒性予測のための知識ベースエキスパートシステムである。その知識ベースは、DfW により行なわれる毒性予測に寄与するア

ラート、例証化合物、および、reasoning rule から構成される。NIHS により支援を受けた以前のプロジェクトは、亜急性毒性試験データが、肝毒性や腎毒性といった標的臓器毒性エンドポイントの被覆率を向上させるために、full アラートと Rapid Prototype アラートの導出に対して成功裏に利用できることを示した。しかし

ながら、甲状腺、脾臓もしくは骨髄といったエンドポイントは、その知識ベースに対してはまだ詳しく調査されていない。

現在のプロジェクトの目的は、NIHS より提供された亜急性試験データを用いて、甲状腺、脾臓および骨髄毒性に対する Rapid Prototype アラート開発戦略を開発することにより、標的臓器毒性予測の被覆率を更に向上させることである。現在、知識ベースは全部で 14 本の甲状腺毒性アラートを保有しているが、

脾臓および骨髄毒性についてはアラートが存在しない。

このプロジェクトの開始前に、NIHS により提供された 28 日反復投与毒性試験データ中の 1467 個の化合物のデータセットを使って、実現可能性調査が行なわれた。この調査の結果、陰性化合物と比較して限られた量の陽性化合物(表 1)とそのデータセットの多様性がそれぞれの毒性エンドポイントに対するクラスターの特定を困難にすることが分かった。

臓器	陽性化合物の個数	陰性化合物の個数	陽性化合物の割合
脾臓	168	1299	11.5%
骨髄	46	1421	3%
甲状腺	51	1416	3.5%

表 1: 各々の臓器毒性に対する、データセット中の陽性化合物の割合

<sup>1</sup> Derek, Version 13.0.0 (2010), Lhasa Limited (UK)

トレーニングデータセットのこの制限により、データセット中の陽性化合物の個数に応じて Rapid Prototype アラートの開発順序を決めるようにし、従って、脾臓、甲状腺、骨髄の優先順位とした。

Derek における Rapid Prototype アラートを開発するために私有の 28 日間反復投与毒性試験データを利用することは、公表された文献からは探し出すことが困難な標的臓器毒性エンドポイントの被覆率を向上させることに対して有益である。

#### 方法

NIHSは要約亜急性毒性試験データに関する二つの ISIS/Base<sup>1</sup> データベース (Sinki と Kison) を提供した。これらのデータベースに含まれる幾つかの化合物構造が視覚的な解析を行なうために整理され、また別の幾つかは価数違反のために再描画された(トレーニングデータセットに対してなされた変更の要約は付録Iを参照)。各々のデータベースからSDファイルが作成され、1467 個の化合物に対する一

<sup>1</sup> ISIS<sup>TM</sup>/Base Version 2.3 (1990-2000), MDL Information Systems, Inc

つのトレーニングデータセットとして組み合わせられた。

脾臓毒性、骨髄毒性および甲状腺毒性に対する陽性の定義は、脾臓、骨髄および甲状腺の各組織病理フィールドの値の存在に基づくもので、それらは組織病理学的効果が観測された臨床パラメータや投与量は問わない。

NIHS データセット中の陽性化合物の個数が限られていることから、視覚的な解析により Rapid Prototype に対する候補化合物クラスの最初のセットが特定された。各々の毒性エンドポイントに対して全ての陽性化合物を含む SD ファイルが作成され、それらは置換基、フラグメント、類似の化学的環境を考慮することにより、そして、DfW の知識ベース内の他の毒性エンドポイントに対する既存のトキシコファアとの類推により解析された。脾臓、甲状腺および骨髄に対する組織病理学的値もまた、潜在的な化合物クラスの特定制に対して考慮された。100 mg/kg 未満の組織病理学的値は直接的な毒性発現メカニズムに対する潜在的な指標として評価された。化合物クラスは更に、陰性化合物を考慮するために ISIS/Base データベースに対して部分構造検索を行なうことにより洗練された。文献情報は、トキシコファアを導出するために毒性発現の潜在的なメカニズムを特定するために精査され、その後トキシコファアが DfW に導入された。

DfW 知識ベースに導入された Rapid Prototype アラートは、パターン構造、alert description picture およびトレーニングデータセット化合物に対する予測精度を記述するための概要コメントから成る。

## 結果

全部で 12 本の Rapid Prototype アラートが開

発され、DfW version13 に導入された。その知識ベースは、当報告書において DfW13 NIHS 020211\_1 として引用される。4 本の脾臓毒性 Rapid Prototype アラート、4 本の骨髄毒性 Rapid Prototype アラートおよび 4 本の甲状腺毒性 Rapid Prototype アラートがそれぞれ実装された。これらのアラートのリストと各々の Rapid Prototype アラートに対する DfW rtf レポートが付録 II に記載されている。脾臓、甲状腺および骨髄における化学物質の毒性は、これらの臓器の通常機能に影響を及ぼす一連の事象に関わり得るだろう。従って、間接的な効果や二次的なメカニズムによる損傷が引き起こされるだろう。今年度の Rapid Prototype アラート開発は、候補化合物クラス群の特定においてメカニズム的な手法を採用した。古典的なクラスタリング手法では、三つの毒性エンドポイントに関して陰性化合物に対する陽性化合物の大きな不釣り合いのために、潜在的な化合物クラスを特定することが出来なかった。従って、視覚的な解析により特定された初期の化合物クラス群は、文献情報により支持される潜在的な毒性発現メカニズムの観点から、更に解析が為された。脾臓、甲状腺および骨髄の組織病理学的値とそれらの間接的な毒性発現メカニズムの潜在的な相関関係が仮定され、従って、0.5 ~ 100 mg/kg の範囲の組織病理学的値を直接的な毒性発現メカニズムに対する証しとして見做した。

## 脾臓毒性メカニズム

アニリン系化合物の脾臓毒性は、文献(*Bus and Popp*) において十分に記載されている。その毒性発現メカニズムには、酸化ヘモグロビン(Oxy-Hb)からニトロソベンゼン(3)そしてメ

トヘモグロビン(Met-Hb)による、赤血球において引き続いて酸化されるフェニルヒドロキシルアミン(2)を形成する、肝臓におけるアニリン(1)の水酸化が関与している(*Bus and Popp*)。ニトロソベンゼン(3)は非常に反応性が高く、N-S 酸化ヘモグロビン誘導体(4)を生成する赤血球中でチオール基を有する adduct を引き続いて生成する。脾臓中でアニリンにより損傷した赤血球の蓄積はこれらの化合物の直接

的な毒性と関連している(図 1)。NIHS データセットは、脾臓中の病理組織学的値により観測されるようになりかなり活性の高い、アニリン誘導体を多く含んでいる。高活性なヒドロキシルアミンに至るニトロベンゼンの代謝活性化もこのタイプの化合物群の脾臓毒性に関与しているかも知れず、ヘモグロビンと結合したそれらの反応性により支持される主張がある(*Suzuki et al*)。

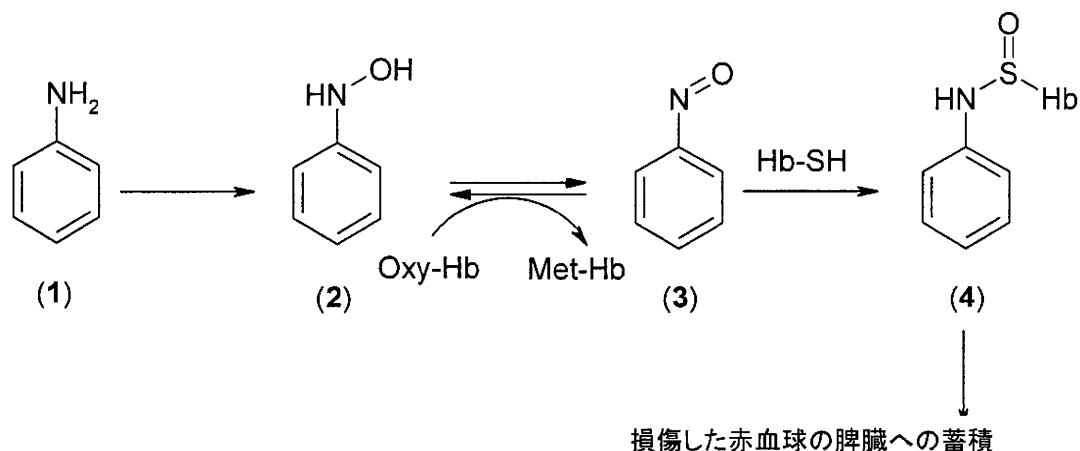


図 1: ヒドロキシルアミン(2) とニトロソベンゼン (3) への代謝活性化を介してのアニリン(1)の脾臓毒性のメカニズム

アニリンとニトロベンゼンの脾臓毒性を記述する二つの Rapid Prototype アラートが DfW 知識ベースに組み込まれた。アニリン化合物クラスに対する構造活性相関は、加水分解し得るアミン・アミド、および、芳香環への小さな置換基を含む(付録 II の rf レポートを参照)。ホスホン酸、スルホン酸およびカルボン酸、そしてフェニル環上のそれらの誘導体といった置換基は、脾臓において不活性であると示されているため、不活性化効果を有することが分かった。従って、それらはアラートの範囲からは除外した。加えて、分子サイズが脾臓にお

ける組織病理学的な損傷と相関があると考えられ、これらの化合物のバイオアベイラビリティとの関連性がある。このことから、非水素原子が 20 個未満であるという分子サイズの制限が加えられた。

オキシムとビス-4-オキシアニリンの脾臓毒性に関する二つの Rapid Prototype アラートが追加された(付録 II)。アルキルオキシムがヒドロキシルアミン誘導体への代謝活性化を經由してヘモグロビンと反応することにより脾臓毒性が引き起こされると推測され、先にアニリンに対して議論されたのと同様のメカニズムが



それに引き続いて起こり得る。しかしながら、この仮定を支持するような文献情報はほとんど見つけられていない。その一方で、ビス-4-オキシアニリンの毒性発現メカニズムに帰することは考えにくく、これらの Rapid Prototype アラートの適用範囲は主として NIHS データセット中の化合物群に基づく。

### 骨髄毒性

脾臓毒性と骨髄毒性の相関関係を評価することにより、全部で 34 個の化合物に対して脾臓と骨髄の双方で組織病理学的値が存在していることが分かった。この数字は骨髄において陽性な化合物の 76% が脾臓に対しても陽性であることを示しており、これは双方のエンドポイントに対して適用可能な類似の毒性発現メカニズムの証拠となりうる(すなわちヘモグロビンとの反応性)。骨髄毒性が陽性な化合物を脾臓毒性 Rapid Prototype アラートに対して Derek 予測処理を行なってみた結果、アニリン系化合物の多くが正しく予測された。同様の構造活性相関(SAR)を共有しているに

も関わらず、ヒドロキシル基やチオール基のようなフェニル環内の高活性置換基が骨髄における活性を減少させることに注意されたい。そういうわけで、別の骨髄毒性 Rapid Prototype アラートが、トレーニングデータセット(付録 II)中の 12 個の陽性化合物をカバーする **DfW13 NIHS 020211\_1** に組み込まれた。このタイプの化合物が骨髄に対して毒性を呈する投与量は脾臓に対するものよりも高く、ヘモグロビンとの直接的な相互作用よりもむしろ二次的な効果を示しているかも知れない。多くのエチレングリコール誘導体が NIHS データセット中に見受けられる。1,2-エチレングリコール(5)の毒性発現メカニズムには、引き続き酢酸誘導体へと酸化される非常に反応性の高いアルデヒド誘導体を形成させるアルコールデヒドロゲナーゼによるこれらの化合物の代謝活性化が関与することが前提とされている(Takagi *et al*) (図 2)。骨髄におけるこれらの生物種の細胞毒性は、幹細胞損傷に対するアポトーシス的なメカニズムを支持するかも知れない。

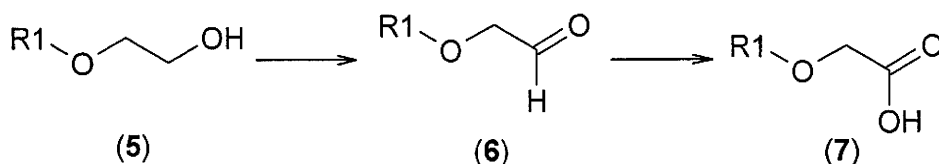


図 2: アルデヒド(6)および引き続き酢酸誘導体(7)への 1,2-エチレングリコール誘導体(5)の代謝活性化

これらの化合物の骨髄毒性を記述している Rapid Prototype アラートが **DfW13 NIHS 020211\_1** に実装された(付録 II)。その SAR は、一か所が置換された 1,2-エチレングリコー

ルに限定されており、その限定は二か所が置換された誘導体の骨髄における不活性により支持されている。

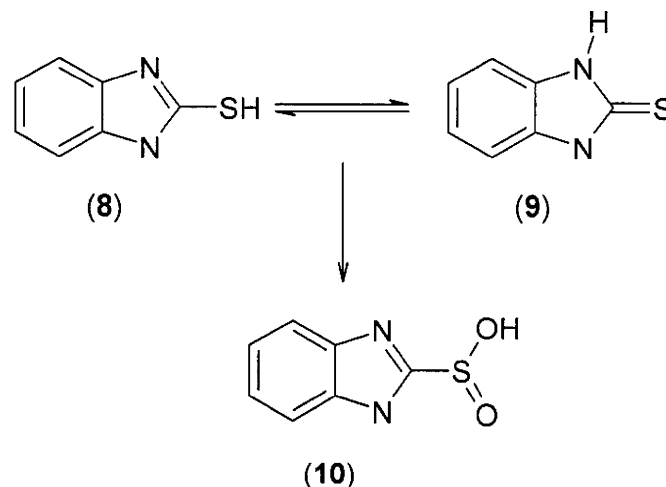
ミコフェノール酸とその誘導体は、イノシンーリ

ン酸デヒドロゲナーゼの阻害を通してのリンパ球におけるプリン合成阻害を通してそれらの活性に影響を与える免疫抑制剤として知られている(Kitchin et al, Behrend)。この化合物クラスの骨髄毒性を記述する Rapid Prototype アラートが実装された(付録 II)。

チオウレア S-酸化物に対する骨髄毒性を記述する Rapid Prototype アラートが一本 DfW13 NIHS 020211\_1 に実装された。チオウレア S-酸化物の毒性発現メカニズムを特定することは難しく、これらの Rapid Prototype アラートの適用範囲は主に NIHS データセットからの一つの化合物に基づく。(付録 II)

#### 甲状腺毒性メカニズム

2-チオベンズイミダゾールによる甲状腺ペルオキシダーゼ阻害は、甲状腺内の組織病理学的な病変と関連している(Doerge et al)。毒性発現メカニズムには、2-ベンズイミダゾール(8)もしくはその互変異性体(9)の酸化により形成されるスルフィン酸誘導体による甲状腺ペルオキシダーゼの自殺型阻害が関与している(図 3)。これらの化合物の互変異性化は、酵素の自殺的な不活性化において重要であると思われ、従って SAR は互変異性体の環の中の窒素原子が一つだけ置換され得るような化合物に制限される。NIHS データセット内の二つの化合物が、この毒性メカニズムを被ることが特定され、一本の Rapid Prototype アラートが実装された。(付録 II)



甲状腺ペルオキシダーゼの自殺型阻害

図 3: 2-チオベンズイミダゾール化合物による甲状腺毒性のメカニズム

ジチオカルバメートによる甲状腺ペルオキシダーゼの阻害もまた、文献において主張されている(Marinovich et al)。NIHS データセットからの一つの化合物に基づくこの化合物クラス

に対する甲状腺毒性を記述する Rapid Prototype アラートが一本 DfW13 NIHS 020211\_1 に実装された(付録 II)。ベンズアミドと 2,6-ジ-tert-ブチルフェノール誘

導体の甲状腺毒性を記述する二本の Rapid Prototype アラートが追加された。これらのタイプの化合物について毒性メカニズムを割り当てることは、殆んどもしくは全く文献を見つけていないために困難である(付録 II)。従って、SAR は主として NIHS データセットからの化合物に基づく。

### 甲状腺毒性Rapid Prototypeアラートの予測精度

新たな知識ベースの予測精度を NIHS データセットに対して DfW version13 で評価した。

表 2 と 3 は、甲状腺毒性予測に関し標準的な Derek version13 の知識ベースに対する予測精度(表 2)と、DfW13 NIHS 020211\_1 (表 3) に対する表を示している<sup>3</sup>。

Derek for Windows 試験結果	陽性	陰性	合計
陽性	2	49	51
陰性	17	1399	1416

感度:  $2/51 = 4\%$ ; 特異性:  $1399/1416 = 99\%$

一致率:  $1401/1467 = 96\%$

表 2: NIHS データセット化合物に対しての、甲状腺毒性に対する DfW version13 の予測精度

Derek for Windows 試験結果	陽性	陰性	合計
陽性	12	39	51
陰性	21	1395	1416

感度:  $12/51 = 24\%$ ; 特異性:  $1395/1416 = 99\%$

一致率:  $1407/1467 = 96\%$

<sup>3</sup> 既存の甲状腺毒性 full アラートと、新規に実装された Rapid Prototype アラートが考慮されている。

表 3: NIHS データセット化合物に対しての、甲状腺毒性に対する DfW13 NIHS 020211\_1 の予測精度

表 3 から、甲状腺毒性予測の感度が 4%から 24%に向上し、その一方で特異性が 99%のままであることが分かる。21 個の偽陽性化合物のうち 17 個が既存の DfW の甲状腺毒性アラートにヒットし、従って、残りの 4 個の偽陽性化合物は Rapid Prototype アラートに起因するものであった。

**脾臓毒性Rapid Prototypeアラートの予測精度**

脾臓毒性予測に関する新規知識ベース DfW13 NIHS 020211\_1 の予測精度を、NIHS データセット中の化合物に対して算出した(表 4)。DfW version13 では、この毒性エンドポイントはカバーされておらず、従って予測精度を比較することは出来なかった。

Derek for Windows 試験結果	陽性	陰性	合計
	陽性	陰性	合計
	33	135	168
	8	1291	1299

感度:  $33/168 = 20\%$ ; 特異性:  $1291/1299 = 99\%$

一致率:  $1324/1467 = 90\%$

表 4: NIHS データセット中の化合物に対しての脾臓毒性に関する DfW13 NIHS 020211\_1 の予測精度

**骨髄毒性Rapid Prototypeアラートの予測精度**

骨髄毒性予測に関する新規知識ベース DfW13 NIHS 020211\_1 の予測精度を、

NIHS データセット中の化合物に対して算出した(表 5)。DfW version13 では、この毒性エンドポイントはカバーされておらず、従って予測精度を比較することは出来なかった。

Derek for	陽性	陰性	合計
-----------	----	----	----