

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) Mekenyan OG, Petkov P, Kotov S, Stoeva S, Kamenska VB, Dimitrov S, Honma M, Hayashi M, Benigni R, Donner M, Patlewicz GY. Investigating the relationship between in vitro - in vivo genotoxicity: Derivation of mechanistic QSAR models for in vivo liver genotoxicity and in vivo bone marrow micronucleus formation which encompass metabolism. Chem Res Toxicol. [Epub ahead of print] (2011)
- 3) Matsumoto M, Harada T, Shibuya T, Hamada S, Honma M, and Hirose A. A chemical category approach of genotoxicity studies for branched alkylphenols. Bull, Natl. Inst. Health Sci., 129, 68-75 (2011)
- 4) R. Kikura-Hanajiri, M. Kawamura, A. Miyajima, M. Sunouchi, Y. Goda. Chiral analyses of dextromethorphan/levomethorphan and their metabolites in rat and human samples using LC-MS/MS. Anal Bioanal Chem 400, 165-174 (2011)
- 5) 城内 博, 宮川宗之, 森田 健:英和対訳 最新 OECD 毒性試験ガイドライン, 追録版, 化学工業日報社, 東京, 2011.
- 6) Takeshi Morita, James T. MacGregor and Makoto Hayashi: Micronucleus assays in rodent tissues other than bone marrow, Mutagenesis, 26, 223-230, 2011.

- 7) 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, 723, 77-83, 2011.
- 8) Takeshi Morita and Kaoru Morikawa: Expert Review for GHS Classification of Chemicals on Health Effects, Industrial Health, 49, 559-565, 2011.
- 9) Takeshi Morita, Masamitsu Honma, Kaoru Morikawa, Effect of reducing the top concentration used in the in vitro chromosomal aberration test in CHL cells on the evaluation of industrial chemical genotoxicity, Mutation Research, 741, 32-59, 2012.

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一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 (2011.03)、静岡
 - 7) Takeshi Morita, Masamitsu Honma, Kaoru Morikawa: Analysis of *in vitro* chromosomal aberration test data with CHL cells for reducing top test concentration for industrial chemicals, 42nd EMS 2011 Annual Meeting (2011.10), Montreal
 - 8) M. Sunouchi, A. Miyajima-Tabata, R. Kikura-Hanajiri, S.-R. Kim, T. Kubo, S. Ishida, M. Usami, Y. Sekino Inducibility of CYP1A by linuron in primary cultured human hepatocytes, EuroTOX 2011 (2011.8)
 - 9) 酒井 恵子、宮島 敦子、加藤 玲子、岡田 恵里、尾崎 正康、松岡 厚子 ナノ材料の安全性評価における A549 細胞と CHL 細胞の感受性の比較 日本環境変異原学会 第 40 回大会 (2011.11)

知的所有権の取得状況

なし

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）

分担研究総合報告書（H21-23）

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

本研究では、構造活性相関手法の化学物質のヒト健康影響評価における実用化に向けて、各種毒性アラートの構築及びカテゴリーアプローチの安全性評価への適用に関して研究を行った。in vitro 染色体異常誘発性に関しては、7化合物クラスの解析により、新たに2つのアラートと5つの Rapid Prototype アラートの構築に成功した。in vivo 染色体異常エンドポイントの被覆率向上のため in vivo 小核試験データセットについて in vitro 染色体異常アラートに対して予測処理を行い、有効なアラート候補について文献調査等により、新たに in vivo 染色体異常予測に有効なアラート構築に成功した。変異原性予測精度の検証と向上のために、WHO 食品添加物シリーズ(FAS)報告書にて評価された376個の化合物に対する Ames 試験データを解析した結果、14化合物が疑陰性、44化合物が疑陽性判定され、疑陰性化合物に対する解析により、二つの新たなアラートが選択された。反復投与毒性については、標的臓器毒性(脾臓、骨髄、甲状腺毒性、副腎、精巣、および、心臓毒性)について、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各毒性について Rapid Prototype アラートの構築に成功した。カテゴリーアプローチの適用について検討するため、アミノフェノール類及びジメチルアニリン構造異性体について情報収集を行い、カテゴリーアプローチを適用した経済協力開発機構の高生産量既存化学物質初期評価のための SIAP、SIAR 及び IUCLID Dossier を作成した。

研究目的

我が国では、昭和48年の化学物質の審査及び製

造等の規制に関する法律（化審法）制定以降に新たに流通した化学物質については事前審査が実施

されてきており、ヒト健康影響に関しては、製造輸入業者は 3 種のスクリーニング毒性試験 (AMES 試験、染色体異常試験および動物を用いた 28 日間反復投与試験) 結果の提出が義務付けられ、それに基づく安全性評価結果をもとにした規制が行われてきている。

化学物質の安全性評価を従来の毒性試験によって行うためには、多額の費用と期間がかかるため、たとえ国際協力の下で実施したとしても数万種の既存化学物質について十分な評価を行うことは不可能であり、より効率的な方法が求められている。我が国の化審法においても平成 21 年改正にあたり既存化学物質も含めた全ての化学物質の包括的管理制度が導入され、化学物質のスクリーニング評価に要する費用・期間の効率化や国際的な動物試験削減の要請にかんがみ、(定量的) 構造活性相関の活用等を含む動物試験の代替法の開発・活用を促進することが求められている。

カテゴリーアプローチや構造活性相関手法を組み合わせた、効率的かつ信頼性の高い安全性評価スキームが実用化されれば、全ての化合物について多額の費用と時間がかかる安全性試験を行わなくても、安全性について有る程度の予測的評価を行うことが可能となり、さらに、安全性試験を実施すべき物質を選定して試験実施することで効率的な安全性評価が可能となる。

本研究では、構造活性相関手法の化学物質のヒト健康影響評価における実用化に向けて、各種毒性アラートの構築及びカテゴリーアプローチの安全性評価への適用に関して研究を行った。in vitro 染色体異常誘発性に関しては、新たな Rapid Prototype アラートの構築、さらには in vivo 染色体異常エンドポイントの被覆率向上のため新たな in vivo 染色体異常予測に有効なアラートの構築を、変異原性予測に関しては予測精度の検証と向上のため新たなアラートの構築を行った。一方、

反復投与毒性については、標的臓器毒性(脾臓、骨髄、甲状腺毒性、副腎、精巣、および、心臓毒性) について、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各毒性について Rapid Prototype アラートの構築を行った。さらに、カテゴリーアプローチの適用について検討するため、アミノフェノール類及びジメチルアニリン構造異性体について情報収集を行い、カテゴリーアプローチを適用した経済協力開発機構の高生産量既存化学物質初期評価のための SIAP、SIAR 及び IUCLID Dossier を作成した。

研究方法

1. Derek for Windows のヒト健康影響エンドポイントの被覆率向上のための新規アラートおよび Rapid Prototype アラートの開発に関する研究

Derek for Windows(DfW)は、Lhasa Limited: UK によって開発された毒性予測のためのエキスパートシステムである。その知識ベースは、DfW により行われる毒性予測に与するアラート、例証化合物および Reasoning rule から成り立っている。本研究では、NIHS と Lhasa Limited との共同により、NIHS により提供されたデータをもとに、DfW アラートや Rapid Prototype アラートの開発や修正により DfW 知識ベースの改善による予測精度や適用化合物構造の拡張を実施した。

2. アミノフェノール類及びジメチルアニリン構造異性体安全性評価におけるカテゴリーアプローチ適用の検討

アミノフェノール、ジメチルアニリンの構造異性体における物理化学的性状、環境運命及び環境毒性に関し、文献調査を行いデータギャップの部分については構造活性相関手法を用いて補完し、カテゴリーアプローチの適用が妥当であると判断された場合、得られた結果を基に、SIAP、SIAR 及

び IUCLID Dossier を作成した。

研究結果

1.1 染色体異常エンドポイントの被覆率向上のための新規アラートおよび Rapid Prototype アラートの開発

方法

NIHS より提供された 270 化合物の構造情報とそれに付随する *in vitro* 染色体異常試験データについて化合物構造の整理を行った。幾つかの化合物については価数違反により再描画された。また、化合物 ID199299415 と 199899411 は重複しており、解析に当たって片方の化合物構造のみを使用した。SD ファイル (NIHS data_Sept09.sdf) を作成し、これには *in vitro* 染色体異常試験結果に基づき、115 個の陽性化合物、146 個の陰性化合物、および、試験結果がはっきりしない 8 個の化合物、の合計で全 269 個の化合物が含まれている。NIHS data_Sept09 に対して、Derek for Windows version 12 で毒性予測を行い、予測精度を算出した。

当プロジェクトの初期の段階で実施された実行可能性調査 2 から、まず 7 個の新たな化合物クラスが選択された(付録 I)。化合物クラスは以下の通りである。

- ・ Alkyl anthraquinones
- ・ Alkyl naphthalenes
- ・ Alpha,beta-unsaturated pyridines - Michael acceptors
- ・ Aromatic nitriles
- ・ Benzoic acids
- ・ Benzothiazole or derivatives
- ・ Styrene or derivatives

これらの化合物クラスは、予備的調査が、これらを裏付けるために入手可能な文献情報が殆んどもしくは全く無いということを示唆していること、従って、アラートが主に NIHS データのみに基づき構築できるか否かを証明するだろうということをもとに選択された。二つの化合物クラスがデータセット全体の解析により更に特定され、それらは anilines と thiophosphates である。

化合物構造と試験結果に加えて、その多くの化合物に対する詳細な *in vitro* 染色体異常試験データが NIHS ウェブページ から入手可能である。試験結果の評価は、最大耐容量 10mM に基づいて行われ、それは構造的もしくは数的異常を示す化合物が陽性であると見做される数値である。10mM よりも高い投与量は陰性として見なされる。加えて、個々の化合物クラスに対して、試験に供された化合物クラス内の化合物を更に特定するため、および、観測された染色体異常の解析の起点を成すかも知れない毒性発現の理論的根拠を探るために、公共データおよび文献情報を検索した。文献情報での追加的な裏付けデータが不足しているが、明白な構造活性相関が導出できるような化合物クラスが Rapid Prototype アラートとして構築された。

結果

全部で 2 個のアラートと 5 個の Rapid Prototype アラートが構築され、Derek for Windows version12 の知識ベース(この報告書では、DfW12 NIHS 151209_1 と引用する)に組み入れられた。これらのアラートは *in vitro* 染色体異常アラートとして実装され、一つの新しいエンドポイントが DfW ガイドラインに従って、それらの Rapid Prototype アラートに対して作成された(rapid prototypes: chromosome damage *in vitro*)。これらのアラートと Rapid Prototype アラートに対す

る DfW rtf 形式レポートが付録 III に添付されている。

実行可能性調査にて特定された二つの化合物クラス (benzoic acids と aromatic nitriles) は、公共文献中の構造類似化合物に対する証拠情報が不足していること、そして、構造類似化合物に対する試験結果に矛盾が見られることにより、DfW 知識ベースには実装されなかった。

二つの benzoic acid 誘導体が NIHS データセット中で特定され、その双方とも *in vitro* 染色体異常試験で陽性と報告されている。(図 1)

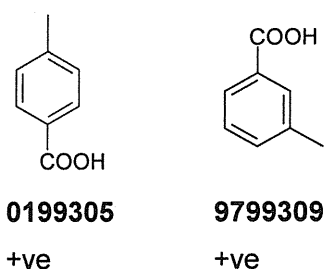


図 1: NIHS データセット内で特定された benzoic acid 誘導体

4-methyl benzoic acid (0199305) と 3-methyl benzoic acid (9799309) の詳細データについてのより詳しい調査により、これらの化合物がそれぞれ 13.2mM および 14.7mM の投与量にて構造的な染色体異常を引き起こすことが明らかとなった。幾つかのデータベース (NTP [1], Sofuni data book [2], Vitic [3]) と組織内のデータセットが benzoic acid 官能基を含む化合物を探すために検索され、同じ化合物クラスに属する様々な置換基に対して雑多な試験結果が示されている。例えば、benzoic acid (1) は *in vitro* 染色体異常試験の結果がはっきりしなかった一方で、sodium benzoate (2) は陽性であると報告されている [2] (図 2)。

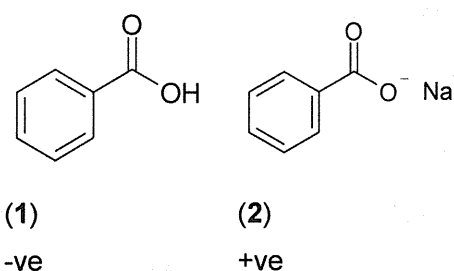


図 2: Benzoic acid (1) と sodium benzoate (2)

三つの化合物サブクラスが benzoic acid 誘導体群にて特定された:

Phthalate esters, Salicylates and Parabens.

Phthalate esters は、mono-2-ethylhexyl-phthalate [4] の例外を除き、一般に染色体異常試験で陰性を示す。染色体異常試験結果の多様性、および、多くの場合に陰性の試験結果が示されることを考えると、これらの化合物をカバーするアラートを導出することができないと結論付けられる。Salicylates は、NIHS 遺伝毒性プロジェクトにおいて構築された Rapid Prototype アラートによって当初カバーされたが、この化合物クラスは、その厳しく制限されたスコープ (適用範囲) のために、完全なアラート (Rapid Prototype でない、標準的なアラート) に変換されていない。Parabens、もしくは、p-hydroxybenzoic acid のエステルは、ミトコンドリアエネルギー生産攪乱物質として知られている [5]。これらの化合物は、酸化的リン酸化を脱共役させ、その結果として細胞内における ATP 産生を激減させる。細胞内における ATP の減少は、微小管の重合を妨げ、従って、紡錘体を分裂させることにより染色体異常を引き起こす。このミトコンドリア効果は、エステル基内のアルキル鎖が長くなると共に増加し、一方で、染色体異常はその逆の傾向を示す (より短いアルキル鎖は染色体異常試験で陽性を示す)。アラートがこの化合物クラスに対して構築可能かも

知れないが、構造活性相関を調査するための更なる研究が必要とされるだろう。

四つの aromatic nitriles が NIHS データセットに

おいて特定され、そのうちの三つが *in vitro* 染色体異常試験で陰性であり、残りの一つが陽性であると報告されている。(図 3 参照)

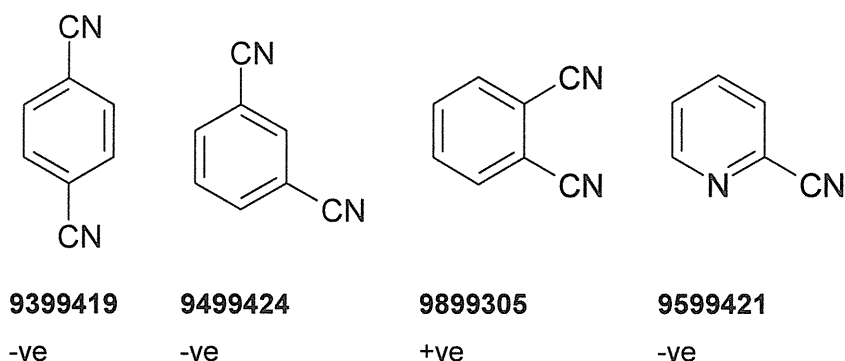


図 3: NIHS データセット内で特定された Aromatic nitriles

1,2-Dicyanobenzene (9899305)は、NIHS データセットにおいて *in vitro* 染色体異常試験で陽性であると報告されているが、そのデータの詳細な解析結果は、この化合物が倍数性を誘導し、構造的な染色体異常を引き起こさなかったことを示している。構造類似化合物の 1,3-dicyanobenzene (9499424)と 1,4-dicyanobenzene (9399419)は、染色体異常アッセイにおいて構造的・数的な異常のいずれも引き起こさず、3-cyanopyridine (9599421)についても同様に引き起こされなかった。

公的に入手可能な文献を検索することにより、*in vitro* 小核試験 [6] (図 4) における benzonitrile (3)の活性について記述している論文が発見された。その化合物は、サブマイクロモルの投与量レベルにおいて陽性を示し、主にキネトコア陽性微小核を生成し、また、ミリモルの投与量にも関わらず、チューブリン重合を阻害することが示されている。また、1,2-dicyanobenzene (9899305)はこのメカニズムを経由して倍数性を

引き起こす可能性が考えられるが、この仮定に対する直接的な証拠は発見されていない。それに反して、chlorothalonil (4) (図 4) は構造的な染色体異常を誘導し [1]、それはこの化合物とグルタチオンのような細胞のサルファ求核剤との既知の反応性によるものと考えられる [7]。

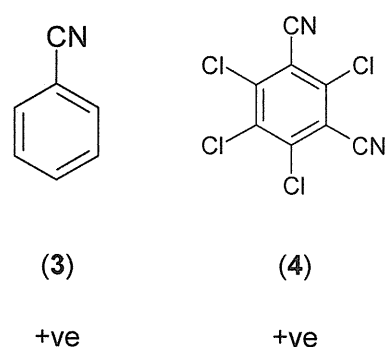


図 4: Benzonitrile (3)と chlorothalonil (4)

この化合物クラス内の陽性化合物に対して得られた雑多な試験結果、および、続いて起こる多数のメカニズムに対する証拠情報から鑑みて、この化合物クラスに対するアラートを実装しないことにした。

二つの化合物クラスが完全なアラートへと変換された: α,β -unsaturated pyridine, pyrimidine or 1,3,5-triazine と 2-thio-benzimidazole or -benzothiazole である。残りの化合物クラスは、文献からの裏付け情報が無いものの明白な構造活性相関を詳細なデータと NIHS より提供された化学構造から導出することができた。これの一つの例として、alkyl anthraquinones がある。DfW は、少なくとも一つの水酸基が分子内に存在しなければならないという制限が設けられている hydroxylated anthraquinones に関連したアラートを一件包含している。実験的な証拠情報は、これらの化合物により引き起こされる構造的な染色体異常が、代謝活性化を必要としていることを示唆している。従って、可能性のある毒性発現メカニズムは水酸化誘導体(活性酸素種の形成を通じての染色体異常活性ありとして既に知られている化合物)を形成するための芳香環における直接的酸化反応を含むかも知れない。この推測されたメカニズムに対する裏付け情報が不足しているため、NIHS より提供された化合物に基づき Rapid Prototype アラートが組み込まれた。

新しい知識ベースの予測精度を DfW version12 に対し、NIHS より提供された Kison データセットを使用して調査した。表 1 と表 2 は in vitro 染色体異常予測に対する、標準の DfW version12 と DfW12 NIHS 151209_1 知識ベースそれぞれについての予測精度を示している。

Derek for Windows 試験結果	陽性	陰性	合計
陽性	45	70	115
陰性	14	132	146

感度: $45/115 = 39\%$; 特異性: $132/146 = 90\%$

一致率: $177/261 = 68\%$

表 1: NIHS Kison データセット内の化合物に対する Derek for Windows version 12 の予測精度

Derek for Windows 試験結果	陽性	陰性	合計
陽性	59	56	115
陰性	17	129	146

感度: $59/115 = 51\%$; 特異性: $129/146 = 88\%$

一致率: $188/261 = 72\%$

表 2: NIHS データベース内の化合物に対する DfW12 NIHS 151209_1 の予測精度

表 2 から、染色体異常予測の感度が 51%へと増加した一方で、特異性が 88%へとわずかに減少したことが見て取れる。特異性に対するこの僅かな減少は、Rapid Prototype アラートの実装に起因する 3 件の付加的な偽陽性予測結果によるものである。

外部データセットに対する予備的な調査結果

DfW12 NIHS 151209_1 に組み込まれたアラートと Rapid Prototype アラートの予測精度を評価するために、NIHS より提供された全部で 53 個の化合物から成る外部データセット(Sinki データ)が予測に供され、in vitro 染色体異常に対する予測精度(表 3)が算出された。

	陽性	陰性	合計

Derek for Windows 試験結果			
陽性	4	22	26
陰性	3	24	27

感度: $4/26 = 15\%$; 特異性: $24/27 = 89\%$

一致率: $28/53 = 53\%$

表 3: NIHS より提供された Sinki データセット内の化合物に対する DfW12 NIHS 151209_1 の予測精度

Sinki データセットに対する染色体異常予測の感度 (表 3) が 15% である一方で、特異性は 88% を超えたままである。表 3 から、ごく限られた個数の真陽性化合物 (4 化合物) と偽陽性化合物 (3 化合物) が染色体異常アラートもしくは Rapid Prototype アラートにヒットしたことが見て取れる。これらの 7 個の化合物はこの研究プロジェクトにて組み込まれたアラートもしくは Rapid Prototype アラートのいずれにもヒットしなかった。この結果は、トレーニングデータセットに含まれているケミカルスペースがテストデータセット化合物から大きく離れているだけでなく、既存の DfW アラートによりカバーされているケミカルスペースからも遠いことを示している。結果として、改良の見込みがある既存の DfW アラートと新しい化合物クラスの特定がこの新しいデータセットに対する染色体異常予測感度を向上させるかも知れない。

結論

染色体異常予測に対する二つのアラートと五つの Rapid Prototype アラートが DfW に組み込まれた。これらのアラート実装後のトレーニングデータセットに対する染色体異常予測精度は、感

度: 51%、特異性 88% であった。

NIHS より提供された私有データセットからのアラート開発の限界と被覆率はトレーニングデータセット化合物に含まれているケミカルスペースの多様性と文献からの裏付け証拠情報に依存する。Rapid Prototype アラートの開発に対しては、文献からの証拠情報は考慮しておらず NIHS データセット中の詳細な *in vitro* 染色体異常試験データのみを考慮している。従って、これらのアラートによりカバーされているケミカルスペースはトレーニングデータセット内にて得られる化合物クラスに制限される。詳細な試験データは、10mM の範囲を超える投与量で陽性を示すと報告されている化合物 (benzoic acid) を選別する際、および、化合物クラス (aromatic nitriles) 内の構造活性相関を評価する際に有用であると示された。

あるテストデータセットを使用しているアラートと Rapid Prototype アラートの予測精度評価結果は、テストデータセット化合物内のケミカルスペースの被覆率の不足を示唆している。偽陰性化合物の更なる解析は、テストデータセット化合物内に含まれている化合物クラスの幾らかの洞察を提供し、DfW におけるそれらの被覆率を改善させるかも知れない。

このプロジェクトは、私有データセットが DfW 知識ベースにおける染色体異常アラートの被覆率を改善させるために使用できることを示した。新しいテストデータセットを入手できると、それを Rapid Prototype アラートを保証もしくは改良するために使用することができ、それに引き続く標準 DfW アラートの開発を可能にする。

参考文献

- [1] NTP; National Toxicology Program Web Server; available at "<http://ntp-server.niehs.nih.gov/>".
- [2] Sofuni; Revised Edition 1998 Data

Book of Chromosomal Aberration Test in Vitro, Sofuni T (editor), Life-Science Information Center, Tokyo

- [3] Vitic 4.6, Lhasa Limited, UK
- [4] Philips BJ *et al*, *Environmental Health Perspectives* 1986, 65, 263-266
- [5] Nakagawa Y and Moldeus P, *Biochemical Pharmacology* 1998, 55 (11), 1907-1914
- [6] Bonacker D *et al*, *Archives in Toxicology* 2004, 78, 49-57
- [7] Arvanites AC and Boerth DW, *Journal of Molecular Modeling* 2001, 7, 245-256

1.2 In Vivo 染色体異常予測のための新規 Derek for Windows アラートおよび Rapid Prototype アラート開発

序論

これまで、DfW の in vivo 染色体異常予測の改良は NIHS Year4 と Collaborative projects の焦点であった。全部で 17 個の in vitro 染色体異常アラート(付録 IV)がこれまで三つの in vivo 染色体異常データ: FDA Genetox Database (Leadscope Inc)、Kirkland データセットの一部 (NIHS により提供された)、オンライン毒性データベース Vitic Nexus (database version 1.75)を使って調査されている。多くの場合において、それらの in vivo 活性を予測するために、新たな reasoning rule が既存の in vitro 染色体異常アラートに対して追加された。In vivo 活性が異なる、もしくは、in vitro 染色体異常アラートと比較して関連が無い場合は、アラートコメントの更新に留まった。最後に、例えば異なるメカニズムのために別々のスコープが描画されるような化合物クラスに対しては、新た

なアラートが実装された。この作業の結果、Kirkland データセットに対する in vivo 染色体異常予測の感度が 29%に上昇し、組み合わせられたデータセットに対して全体的な感度が 20%に上昇した。

NIHS Year5 プロジェクトの目的は、DfW の in vivo 染色体異常予測の被覆率を更に改善させ続けることである。上記で述べられたデータセットを使っての既存 in vitro 染色体異常アラートの in vivo アラートへの拡張は、このエンドポイントの予測の感度を上昇させる比較的素早い方法であることが示されている。しかしながら、しばしば一貫性の無い試験結果を有するこれらのデータセット間の重複の存在は、開発するアラートの優先順位付けのために、標準的なデータセットを持つ必要性を指摘してきた。この理由のために、意思決定ベース手法が

重複データを取り除き、陽性結果の有無に基づき最終結果を定義することで三つのデータセットを組み合わせるために開発された。

この報告書では、in vivo 染色体異常の組み合わせられたデータセットを用いて候補アラートを特定するための僅かに修正された手法を記述する。そして、既存の in vitro 染色体異常アラートに対する更新によって続けられたデータの次なる解析、および、新しい in vivo 染色体異常アラートの開発が記述されている。

方法

・データセットの組み合わせ

この作業において、三つの in vivo 小核試験データが使用された。

Kirkland データセットの一部 - NIHS により蓄積、提供されたデータセットであり、in vivo 小核試験データを有する 256 個の化合物を含む。

FDA Genetox Database - Leadscope Inc.のデー

データベースから抽出されたデータセット。in vivo 小核試験データを有する 956 個の化合物を含む。

Vitic Nexus – オンラインデータベース Vitic Nexus (database version 1.75)から抽出されたデータセット。in vivo 小核試験データを有する 804 個の化合物を含む。

これらの三つのデータセットが組み合わせられ、ある化合物に対して三つのデータセットの内のどれか一つが陽性結果である場合最終結果を陽性とするように、各々の新規化合物に対して最終結果が割り当てられた。少なくとも一つの弱陽性結果を有する化合物は弱陽性と割り当てられた(ただし陽性結果が報告されていなかった場合)。少なくとも一つの”equivocal”な結果を有する化合物(ただし陽性もしくは弱陽性結果が報告されていなかった場合)にたいしては”equivocal”、陰性結果のみを有する化合物については陰性を割り当てた。不確定を除き何か他の結果を持たない化合物は不確定とした。そして、データセット中に残っている重複構造や化合物構造に関連の無いレコードは除外された。このことにより、overall in vivo 染色体異常結果を有する 1544 個の化合物データセットの生成に至った。(如何にして最終結果の割り当てがなされ、データセットから如何にして重複データが除外されたのかに関する詳しい説明は、付録 V を参照。)

・候補アラートの特定

次に、組み合わせられたデータセットが DfW version14 の in vitro 染色体異常アラートに対して予測処理され、それに続く陽性予測率が各々のアラートに対して算出された(付録 VI)。この解析からは、弱陽性、equivocal、不確定、および、データが無かった化合物は除外された。更なる調査のための候補アラートを選択するための基準は、高い陽性予測率だけでなく、アラートにヒットし

た化合物数や化合物クラスの専門家による分析といった他の要因の考慮にも基づく。更なる調査のために選択された候補アラートは、付録 VII において強調されている。

・In vivo 染色体異常予測の開発

候補アラートを選択した後、アラートにヒットした各々の化合物の実験値を文献からの原著論文に対してチェックした。可能であれば、同じ化合物に対して競合する結果がテストプロトコル(例: 投与量、サンプリング時間、組織、投与経路など)の違いに基づき正当化された。化合物には実験結果、陽性・陰性・不確定が割り当てられた。加えて、それら化合物や化合物クラス中の別の化合物に対して追加的なデータソースを特定したり、また、提案されているメカニズムや一貫しない結果に対する原因を支持したりするために、一般的な文献の検索を行った。

結果

更なるアラート開発のために、7 個のアラートが特定された(付録 VII)。調査により、4 個のアラートが in vivo 染色体異常をカバーするように拡張され、その各々に対して Reasoning rule が追加された(表 7)。例えばスルホン酸エステルのような、化合物のサブクラスが in vivo 活性ありとして特定されたような alert 027 に対するアラートコメントが更新され、それに続いて独立したアラートが実装された。化合物クラスに対する調査の結果として、三個の新しい in vivo 染色体異常アラートが実装された。

新しい in vivo アラート実装の背後の Reasoning

In vivo アッセイに対して予測を行えるように in vitro アラートを拡張することが可能である場合、この背後にある Reasoning は殆ど説明を必要

としない(即ち、アラートにヒットする化合物の大部分が *in vivo* 染色体異常試験において陽性を示す)一方、新しいアラートが *in vitro* アラートによってカバーされる多くの化合物の *in vivo* 活性を記述するように書かれなければならない場合、いくらかの議論が必要となる。

Alert 027 は、アルキル化剤の *in vitro* 染色体異常誘発能を予測する。ハロゲン化アルキルに加えて、そのアラートは硫黄原子に直接結合している水酸基が欠けている *alkyl sulphinates*, スルホン酸塩、および、硫酸塩を含む。このアラートは程々の陽性予測率(44%, 付録 VI)を有しているのみだが、比較的多数の陽性化合物(27 化合物)がこのアラートにヒットし、それは更なる解析の適切な候補とされた。

In vivo 陽性および陰性化合物を精査すると、多くのハロゲン化アルキルが *in vivo* 細胞毒性試験において陰性結果となるのに対して、スルホン酸塩と硫酸塩は一般に陽性であることがわかる。例えば、ハロゲン化アルキル 1,1,2-トリクロロエタン (6)、1,3-ジクロロプロパン (7) [Crebelli *et al.*], そして、3-iodo-1,2-propanediol (8) [NTP 1988] の全ては、マウス骨髄で試験した場合小核の誘導が見られないが、一方で、メタンスルホン酸メチル(9) [Tsuyoshi *et al.*], メタンスルホン酸エチル(10) [Kondo *et al.*], および、ジエチル硫酸(11) [Morita *et al.*] は、マウス骨髄もしくは末梢血において陽性となる(図 2)。

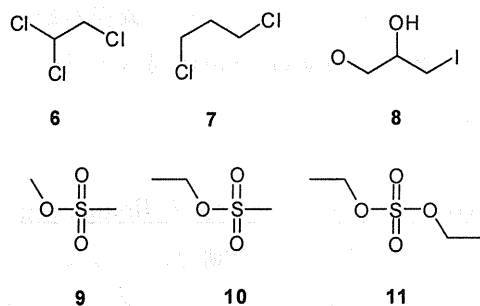


図 2: alert 027 にヒットする化合物の構造

特定された化合物サブクラスの結果として、新しいアラート(alert 748)がスルホン酸塩と硫酸塩により引き起こされる *in vivo* 染色体異常を予測するように実装された(付録 VIII)。この新しいアラートのスコープが図 3 に示されている。*in vivo* 細胞毒性試験における多くのハロゲン化アルキルの不活性に対する理由は、それらの *in vitro* 活性にも関わらず、明確でない。一つの見込みのある説明は、一般に、ハロゲン化アルキルは反応性が余りに高すぎて標的臓器(骨髄および末梢血)にたどり着けず、代わりに、投与された場所の近くの生体分子と反応する、というものである。

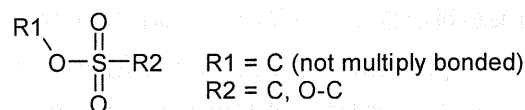


図 3: alert 748 のスコープ

Alert 576 はチミン、シトシンとそれらの誘導体の *in vitro* 染色体異常を予測する。これらの化合物の染色体異常に寄与するかもしれない幾つかのメカニズムが存在する。内因性の塩基とヌクレオシドに対して、DNA 合成中に使用される構成要素のプールにおける dNTP(deoxyribonucleotide triphosphates)の相対的濃度を変えることによって、それらは作用する可能性が高い。このプールの攪乱は DNA への不正塩基の組み込みを通じて突然変異を引き起こし得る。外因性の塩基とヌクレオシド類縁体もまたヌクレオシドプールを攪乱し得るが、そのような化合物も DNA へと組み込まれるかもしれず、それは誤対合や連鎖停止を引き起こす[Wutzler and Thust]。外因性の塩基とヌクレオシドはまた、DNA 合成に関与する幾つかの酵素を阻害することが示されている[Mini *et al.*]

アラート番号	アラート名称	結果	Reasoning Rule	Likelihood
019	Epoxide	<i>in vivo</i> にアラート拡張	新 reasoning rule 追加	Plausible
027	Alkylating agent	コメント更新 新規アラート実装 (748).	alert 748 にルール追加	N/A
323	Aryldialkyltriazene	<i>in vivo</i> にアラート拡張	新 reasoning rule 追加	Plausible
519	Aminocarbazole analogue	<i>in vivo</i> にアラート拡張	新 reasoning rule 追加	Plausible
530	Inorganic arsenic compound	<i>in vivo</i> にアラート拡張	新 reasoning rule 追加	Plausible
576	Thymine, cytosine or derivative	新規アラート実装(751)	alert 751 にルール追加	N/A
577	Purine base	新規アラート実装(752)	alert 752 にルール追加	N/A
748	Alkyl sulphate or sulphonate	027 を拡張するように実装	新 reasoning rule 追加	Plausible
751	Thymine or cytosine derivative	576 を拡張するように実装	新 reasoning rule 追加	Plausible
752	Purine base	577 を拡張するように実装	新 reasoning rule 追加	Plausible

表 7: 候補アラートと調査の結果のリスト。実装された新しいアラートは赤くハイライトされている。N/A = 非適用。

Alert 576 は高い陽性予測率(78%, 付録 VI)を示し、比較的多くの陽性化合物を予測している(7個の陽性化合物)。しかしながら、このアラートは内因性の塩基とヌクレオシドをカバーしており、従って、内因性の塩基とヌクレオシドは *in vivo* 活性を示すことはありそうに無いと思われるため、*in vivo* 染色体異常の予測に対しては適切でないと考えられる。これらの化合物の *in vitro* 活性を説明するメカニズム、ヌクレオシドプールの攪乱は、この効果を引き起こすためには極端に大きな濃度が求められ、生体内の調節系がそれを圧倒するため、*in vivo* と関連しそうな見込みは低い。これは、組み合わせられた *in vivo* データセットからのデータによって

支持される仮定であった。修飾された糖の部分を有するチミンとシトシン誘導体の大部分(例えば スタブジン(12)、ザルシタビン(13)そしてジドブジン (14) 図 4)がマウス小核試験において陽性となる一方[Phillips *et al*]、内因性塩基チミンはたいてい陰性となる[Phillips *et al*]。これを念頭に置いて、修飾された糖の部分を有するチミンとシトシン誘導体の活性をカバーするように、新しい *in vivo* アラートが開発された; 内因性化合物はこのアラートのスコープから除外された。

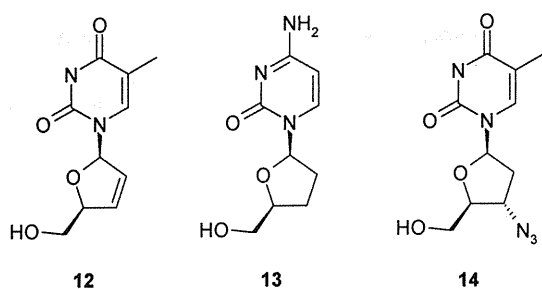


図 4: alert 576 にヒットする化合物の構造

Alert 577 は、アデニン、グアニン、ヒポキサンチン、2-アミノプリンと誘導体を含むプリン塩基の *in vitro* 染色体異常を予測する。ピリミジン塩基とヌクレオシドについて上で議論されたのと同様に、これらの化合物がヌクレオシドプールを攪乱するような染色体異常の惹起や、DNA への組み込みと引き続いて起こる連鎖停止や誤対合や、DNA 合成に関与する酵素の阻害といった複数のメカニズムがある[Wutzler and Thust]。

Alert 576 と同様に、alert 577 は、比較的高い陽性予測率(67%, 付録 VI)を示すにも関わらず、*in vivo* 染色体異常予測に対しては不適当だと考えられた。*In vivo* メカニズムとしてヌクレオシドプール攪乱は不適切であるために、内因性化合物が染色体異常を引き起こすことは期待されない。これは、組み合わせられた *in vivo* データセットからのデータによって支持された。即ち、様々な外因性プリンがマウス骨髄小核試験において活性を示す一方で(例えば、アシクロビル(15)、ガンシクロビル(16) [Haynes *et al*]そしてチオグアニン(17) [NTP 1990], 図 5)、陰性結果が内因性プリンアデノシンとグアノシンに対して報告されている[Sato *et al*]。これを念頭に、外因性プリン塩基、ヌクレオシド、そして、ヌクレオチド類縁体の染色体異常新規アラートが開発された。

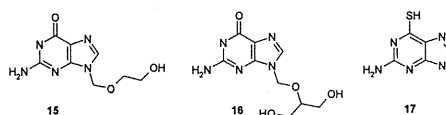


図 5: alert 578 にヒットする化合物の構造

In vivo 染色体異常アラートの予測精度

新規および修正されたアラートを含む新しい知識ベースの予測精度が、組み合わせられたデータセットを使って評価された。表 8 と 9 は、組み合わせられたデータセット中の化合物の *in vivo* 染色体異常の予測について、標準の **DfW version 14** (表 8)と **DfW13 NIHS 170112_1** (表 9)知識ベースのそれぞれに対する予測精度を示している。

Derek for Windows 実験	陽性	陰性	合計
陽性	79	405	484
陰性	57	920	977

$$\text{感度} = 79/484 = 16.3\%$$

$$\text{特異性} = 920/977 = 94.2\%$$

$$\text{一致率} = (79+920)/(484+977) = 68.4\%$$

表 8: 組み合わせられたデータセットに対する **DfW14** の予測精度。1544 個の化合物のデータセットからは、31 個の“equivocal”、43 個の不確定、8 個のデータ無し、そして、1 個の弱陽性化合物は計算から除外され、全部で 1461 個の化合物となった。

Derek for Windows 実験	陽性	陰性	合計
陽性	116	368	484
陰性	70	907	977

感度 = 116/484 = 24.0%

特異性 = 907/977 = 92.8%

一致率 = (116+907)/(484+977) = 70.0%

表 9: 組み合わせられたデータセットに対する DfW13 NIHS 170112_1 の予測精度。1544 個の化合物のデータセットからは、31 個の"equivocal"、43 個の不確定、8 個のデータ無し、そして、1 個の弱陽性化合物は計算から除外され、全部で 1461 個の化合物となった。

表 8 と 9 から、陽性予測率が 16%から 24%へと有意な改良が、特異性に対して 93%という小さな低下を伴うのみで達成されたことがわかる。正しく予測された陽性化合物(真陽性)の個数は 37 個増加し、一方、誤って予測された陰性化合物(疑陽性)の個数はたったの 13 個のみ増加した。

結論

この調査は、DfW における in vivo 染色体異常エンドポイントの更なる開発をもたらした。さらにまた、(Q)SAR 開発の前に、データ共有とデータキュレーションの重要性がハイライトされた。

参考文献

Crebelli R, Carere A, Leopardi P, Conti L, Fassio F, Raiteri F, Barone D, Ciliutti P, Cinelli S

and Vericat JA, *Mutagenesis*, **1999**, *14*, 207-215.

National Toxicology Program (NTP), **1988**, *Study ID 670270*.

Tsuyoshi T, Takeuchi M, Hirono H and Masamoto Y, *Mutation Research*, **1989**, *223*, 383-386.

Kondo K, Suzuki H, Hoshi K and Yasui H, *Mutation Research*, **1989**, *223*, 373-375.

Morita T, Asano N, Awogi T, Sasaki YF, Sato S, Shimada H, Sutou S, Suzuki T, Wakata A, Sofuni T and Hayashi M, *Mutation Research*, **1997**, *389*, 3-122.

Kunz BA, *Mutation Research*, **1988**, *200*, 133-147.

Wutzler P and Thust R, *Antiviral Research*, **2001**, *49*, 55-74.

Mini E, Nobili S, Caciagli B, Landini I and Mazzei T, *Annals of Oncology*, **2006**, *17*, v7-v12.

Phillips MD, Nascimbeni B, Tice RR and Shelby MD, *Environmental and Molecular Mutagenesis*, **1991**, *18*, 168-183.

Sato S, Takizawa H and Inui N, *Mutation Research*, **1993**, *301*, 45-49.

Clode SA and Anderson D, *Mutation Research*, **1988**, *200*, 249-254.

Haynes P, Lambert TR and Mitchell I de G, *Mutation Research*, **1996**, *369*, 65-74.

National Toxicology Program (NTP), **1990**, *Study ID 414883*.

1.3 変異原性予測アラートの検証と偽陰性化合物構造を基にした新規アラートの開発

序論

NIHS は近頃、WHO 食品添加物シリーズ(FAS)中の化合物に対する公開された結果を元に、376 個の香料化合物に対する Ames 試験データを収集した。In silico システムを使用してこの種の化合物の活性を予測することは、当局対応向けの食品添加物の評価の観点から、NIHS にとって興味の対象であり、このために予測精度評価研究(論文は近刊予定)の一部として、これらの化合物が DfW 知識ベース version10.0.2 に対して予測処理された。この解析の結果は表 10 に示されている。

A

Derek for Windows 実験	陽性	陰性	合計
陽性	14	22	36
陰性	22	309	331

感度 = $14/36 = 38.9\%$

特異性 = $309/331 = 93.4\%$

一致率 = $(14+309)/(36+331) = 88.0\%$

B

Derek for Windows 実験	陽性	陰性	合計
陰性	10	14	24
陽性	26	317	343

感度 = $10/24 = 41.7\%$

特異性 = $317/343 = 92.4\%$

一致率 = $(10+343)/(24+343) = 96.2\%$

表 10: NIHS により収集された FAS データセットに対する DfW version10 の予測精度。表 A は、予測結果が equivocal の場合その化合物は陽性化合物に対して含められ、表 B では陰性化合物と見做した。

この研究において、我々はこの研究においてなされた予測とデータセットが DfW version 13.0.0i に対して予測された際の結果を比較した。そして、我々は DfW によってなされた予測を評価し、個々の疑陰性化合物の主要なデータを解析・個々の化合物の被覆率に対する結論を導き・full 変異原性アラートの開発に対して最も有望な化合物クラスを選択することによって、データセットに対する感度を改善させることを目的とした。加えて、我々は DfW により特定された疑陽性化合物に対して幾らかの予備解析を行うことを意図した。

方法

この研究に対するデータセットが 454 個の構造を含む SD ファイルと 367 個の化合物や混合物に対する全体的な Ames 試験結果を含むエクセルシートとして提供された。

化合物構造のデータベースが Instant JChem¹により SD ファイルから作成され、次に Ames 試験結果を有する化合物がそれらの全体的な結果とそれらの JECFA 番号を使用して DfW version10.0.2 にて得られた結果とが突き合わせられた。Ames 試験結果の無い 25 化合物がデータセットから除外され、結果として 429 個となった。

異なる化合物構造が、同じ試料に対して試験

¹ Instant JChem Version 5.5, ChemAxon

された異なる幾何異性体もしくは構造異性体を表現していたので、多くの残りの化合物が同じ JECFA 番号によって共有された。幾何異性体の場合、個々の異性体の内の一つの物質がデータセット中に残され、その構造中の二重結合は未定義とした。それ以外の構造は削除された。同じ JECFA 番号を共有している化合物の場合、様々な構造異性体が同時に試験されていたため、個々の化合物がデータセット中に残された。

次に、DfW version 13.0.0i に対して予測が実行された 376 個の化合物のデータセットを得た。その結果からデータベースが得られ、DfW version 10.0.2 と DfW 13.0.0i の間の予測結果の差異が解析された。個々の疑陰性化合物に対して、主要な文献に立ち戻ることにより、また、個々の化合物に対するデータとそれらの関連する構造を詳細に解析することにより、詳細な評価が行なわれた。そして、新規もしくは更新アラートに対する可能性の決定がこれらの知見や構造活性相関を導出できるであろうケースを含む他の要因に基づき、成された。これは、アラート開発に対して二つの化合物クラスを導き、これらの化合物クラスに対して full 変異原性アラートが書かれた。加えて、疑陽性化合物に対する簡易的な評価も為された。これはすべて結果と解析を含んでいる Instant JChem データベース中に記録された。

結果

この研究において使用されたデータセットは、367 個の化合物・混合物に対して得られた Ames 試験結果から導かれた 376 化合物から成る。24 個の化合物が Ames 陽性、340 個が Ames 陰性、12 個が equivocal として、NIHS により割り当てられた。

DfW 10.0.2 と DfW 13.0.0i を使って得られた結果の比較

このデータセットに対する DfW 10.0.2 の予測精度が NIHS により評価され、その結果が表 10 に示されている。二つのプログラムバージョン間のあらゆる差異を評価するために、データセットが DfW version 13.0.0i に対して予測処理され、その結果を表 11(この解析において、別々の化合物として表現されている混合物のために、結果の重複が考慮されている)に見ることができる。

A

Derek for Windows 実験	陽性	陰性	合計
陽性	17	19	36
陰性	44	287	331

$$\text{感度} = 17/36 = 47.2\%$$

$$\text{特異性} = 287/331 = 86.7\%$$

$$\text{一致率} = (17+287)/(36+331) = 82.8\%$$

B

Derek for Windows 実験	陽性	陰性	合計
陽性	12	12	24
陰性	49	294	343

$$\text{感度} = 12/24 = 50.0\%$$

$$\text{特異性} = 294/343 = 85.7\%$$

$$\text{一致率} = (12+294)/(24+343) = 83.4\%$$

表 11: NIHS により収集された FAS データセットに対する DfW version 13.0.0i の予測精

度。表 A は、予測結果が equivocal の場合その化合物は陽性化合物に対して含められ、表 B では陰性化合物と見做された。

これらの表を比較することにより、古いバージョンと比較して新しいバージョンの DfW において感度が良好に向上している(equivocal 化合物を陰性で見做すと、41.7%から 50%となる)。事実、これは 4-oxy-3(2H)-furanone の活性を記述するアラート(number 645)に起因すると考えられる。この表から、このデータセットに対する特異性が二つのプログラムバージョン間で減少しているように見える一方(equivocal 化合物を陰性で見做すと 96.2%から 85.7%となる)、疑陽性化合物に対するより詳細な解析は、その化合物の多くが実際に DfW のアラートにヒットするはずだということを示している(より詳しい説明は以下を参照)。

各々の解析における感度は未だ比較的低いものの、データセット中の相対的に少ない個数の陽性化合物により(全部で 24 個)、このソフトウェアの予測精度を評価するためにこの値を使用する際には注意が払われるべきだということに留意する必要がある。この少ない個数の結果として、わずかな個数の化合物に対する試験結果の変更は、生成された個数に対して顕著な効果を与えるかもしれない。このデータセットから生成された特異性は、データセット中の比較的多数の陰性化合物のために、より信頼できるかもしれない。

データセット中の疑陰性化合物の解析

Equivocal 化合物に対して如何にして正確に割り当てられるべきかの評価が困難であるため、データに対する我々の更なる解析においては無視された。従って、我々はデータセット中

の残りの 12 個の疑陰性化合物をより詳しく調査することから始めた。我々の調査の知見と個々の化合物に対するアラート開発可能性の評価は付録 X のデータベースから抽出された表で確認できる。

手短に言えば、二つの化合物が明確なメカニズムと関連の可能性がある明確な陽性結果(たとえ弱かったとしても)を有しており、同じクラス中の化合物も Ames 試験において陽性となるため、それら二つの化合物は構造アラートを持つ可能性があるとして評価された。5 個の化合物は構造アラートを有する限定された可能性があるとして示されているが、この化合物に対して唯一のかつ化合物クラスの他の化合物により反映されていない(もしくは関連する化合物が試験されていない)、もしくは陽性結果が得られるために求められる特別な条件のために、この開発が成功することの確からしきは低かった。最後に、化合物のうち 5 個に対する結果が明確でない、もしくは、標準的な条件下における Ames 試験結果が陰性であることを示しているため、それら化合物は構造アラート開発の可能性を持たないとして割り当てられた。

アラート開発の良い候補であるとして特定された二つの化合物クラス、ジアセチルとマルトールは、更に調査され、これらの化合物に対してアラートが開発された。

新しい変異原性アラートの導出

ジアセチルとマルトールの活性に対する手始めの調査では、両者に存在する 1,2-diketone 官能基(図 6 において、18 と 20 により描画されている)を軸として展開し、恐らく共通の変異原性メカニズムが存在し、従って、両者の化合物に対して一つのアラートが示された。1,2-diketone 箇所は、DNA 塩基と in vitro で付

加体を形成するように反応することが示されており [Rodriguez Mellado and Ruiz Montoya]、このメカニズムは 1,2-diketone 系の遺伝毒性に対して役割を演じているとして示唆されている [Bjeldanes and Chew] (図 6)。しかしながら、この官能基は両化合物の活性に対して役割を演じている可能性が高いが、より大きなトキシコファーと関連している他のメカニズムやマルトールとその誘導体に対して役割を演じているかも知れない光活性化の可能性が考えられる [Watanabe-Akanuma *et al*] ことが、更なる調査で示された。

結果として、二つの別々のアラートが DfW version13 の知識ベースに対して実装され、それはこの報告書において DfW13 NIHS

170112_1 として引用され、これらの個々のサブクラスに基づく。各々のクラス中の幾つかの化合物に対して得られた比較的弱い陽性、いくつかの化合物に対する首尾一貫性の無い、あるいは陰性の結果は、これらのアラートに対して Reasoning level として equivocal が割り当てられたことを意味する。個々のアラートに対する RTF レポートは付録 XI で確認できる。

これらの新しいアラートの実装は、特異性に影響を及ぼすこと無くデータセットに対して DfW の感度を著しく向上させた。これらのアラートの実装後の解析の結果が表 12 に示されている (この解析において、別々の化合物として表現されている混合物の存在のために結果の重複が考慮されている)。

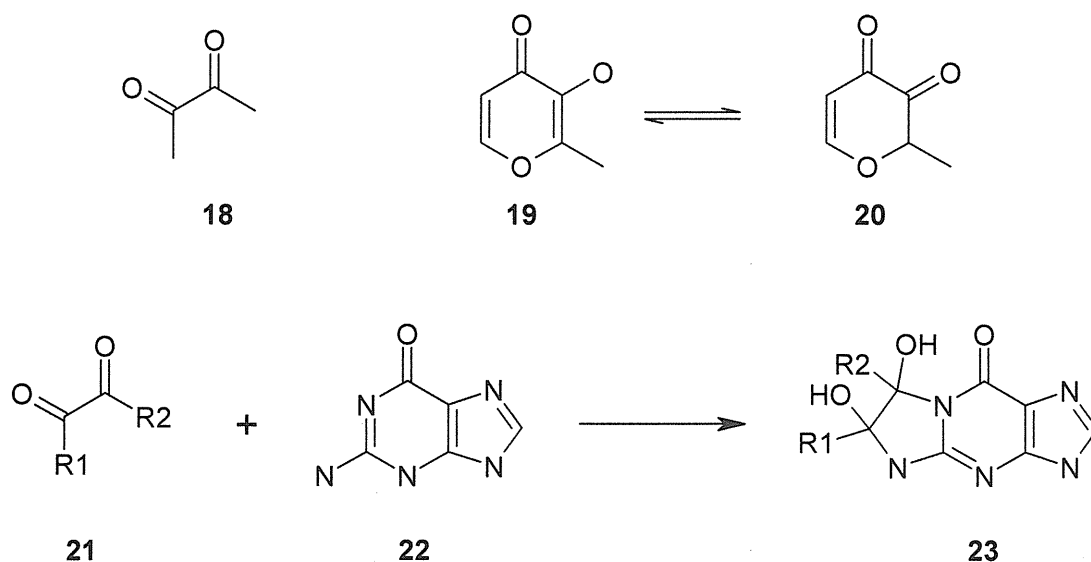


図 6: ジアセチルとマルトールの 1,2-diketone 互変異性体と、それらの DNA 塩基との可能性の考えられる反応

A

Derek for Windows 実験	陽性	陰性	合計
陽性	19	17	36
陰性	44	287	331

感度 = $19/36 = 52.7\%$

特異性 = $287/331 = 86.7\%$

一致率 = $(19+287)/(36+331) = 83.4\%$

B

Derek for Windows 実験	陽性	陰性	合計
陽性	14	10	24
陰性	49	294	343

感度 = $14/24 = 58.3\%$

特異性 = $294/343 = 85.7\%$

一致率 = $(14+294)/(24+343) = 84.0\%$

表 12: NIHS により集められた FAS データセットに対する DfW13 NIHS 170112_1 の予測精度。表 A は、予測結果が equivocal の場合その化合物は陽性化合物に対して含められ、表 B では陰性化合物と見做された。

データセット中における疑陽性の解析

DfW に対してデータセットが処理された際に生成された比較的少ない個数の疑陽性化合物はとも有望である。特に、データセット中において高い割合を示している陰性化合物数を考慮すると尚更である。しかしながら、DfW version10.0.2 と version13.0.0i の間の疑陰性化合物の増加には、幾つかの説明が必要となる。生成された追加

的な疑陽性化合物(22 個)の大部分は、in vitro のほ乳類細胞系におけるアルキルアルデヒドやそれらの前駆体に対する変異原性を記述する単一アラート alert 306 に関連している。従って、これらのデータはこのアラートに対する妥当性は有しておらず、これらの疑陽性化合物は無視することができる。生成された他のたった一つの疑陽性化合物は、フランの変異原性に関連するアラート(alert 574)に対する更新の結果である。このアラートのスコープ変更は、この一つの化合物に対してなされた予測に対して悪影響を与える一方、そのアラートはコメント欄に記述されている個々の化合物に対して得られた結果における極度の変動性を有する化合物クラスについて記述している。従って、このアラートに対するより広範なスコープは 2,3 個の疑陽性を生み出すかも知れない一方で、アラートによって提供される情報はこの欠点を埋め合わせると考えられる。このデータセットからの疑陽性の要約は付録 X で見ることができる。

結論

結論として、この調査は、僅かな個数の疑わしい陽性結果を有する化合物を含むデータセットを使用した際 DfW の変異原性エンドポイントの感度を上昇させることが困難であることを示したかもしれない一方で、これらのデータを使用して知識ベースに対して幾らかの改良を加えることが可能であることを強調した。この調査の一部として実装された二個のアラートのスコープは限定されており、記述された活性は通常弱い(個々のアラートに対する要因と考えられる reasoning level によって反映されているように)一方、アラートコメントに記載されている個々のクラスに対する活性に関する情報が、これらのアラートにヒットする試験済の他の化合物の調査