

ADMEWORKS Predictor Worksheet - Microsoft Internet Explorer

構造式修正前 → 構造式修正後

ID	Name	JAR Inhibitor	Carcinogenicity-FN	Carcinogenicity-FP	AMES-TA98	AMES-TA100
28	ASPILIN					
29	CLIOQUINOL	++				++
30	DESPLEX					
31	ISOMIN					
32	ALACHLOR					
33	VIOXX					
35	ISOMIN_2					

インシリコによる種々特性評価の実施結果

1. 一次元スクリーニングから
二次元スクリーニングへ

■実施形態：対話型

一次元スクリーニング → 二次元スクリーニング

1 薬理活性 / 化合物

複数の薬理活性
複数の毒性
複数の物性

従来型アプローチ

■実施結果画面（種々特性の俯瞰）

ADMEWORKS Predictor Worksheet - Microsoft Internet Explorer

Worksheet: adicline_discubat

Selected molecules: 12/13
Page: 1/1

View: All Selected Data Stable Structure display: None

ID	Name	JAR Inhibitor	Carcinogenicity-FN	Carcinogenicity-FP	Solubility	AMES-TA100	AMES-TA98	Toxicity
1	Mol_1				0.49			
2	Mol_2	++	++		0.28	++		
3	Mol_3				0.28			
4	Mol_4				2.84			
5	Mol_5			++	4.60	++	++	
6	Mol_6	+			1.50			
7	Mol_7	++	+		0.28			
8	Mol_8				0.28			
9	Mol_9	+			0.33			

化合物構造式変更による種々物性の変化

出発化合物構造式 → 新規化合物構造式

薬理活性, 薬理活性, 薬理活性, 薬理活性, LD50, その他

ADME 各種物性: Caco-2, BBB, CYP, LogP, pKa, LogD...

薬理活性, 薬理活性, 薬理活性, 薬理活性, LD50, その他

ADME 各種物性: Caco-2, BBB, CYP, LogP, pKa, LogD...

インシリコによる種々特性評価の実施結果

2. 化合物構造式変更による特性の変化

■化合物構造式の修正/変更とその予測結果画面

ID	Name	3A4 Inhibitor	Carcinogenicity P _N	Carcinogenicity P _F	Volubility	AMES-TA100	AMES-TA90	Rate Of Eye
2	Mol_2-1	+	+	+	2.55	+	+	+
14	Mol_2-1	-	-	-	1.32	-	-	-
15	Mol_2-2	-	-	-	3.87	-	-	-
16	Mol_2-3	-	-	-	3.25	-	-	-
17	Mol_2-4	-	-	-	0.18	+	+	+

■化合物構造式の修正/変更画面

■化合物構造式の修正/変更とその予測結果画面

ID	Name	3A4 Inhibitor	Carcinogenicity P _N	Carcinogenicity P _F	Volubility	AMES-TA100	AMES-TA90	Rate Of Eye
2	Mol_2-1	+	+	+	2.55	+	+	+
14	Mol_2-1	-	-	-	1.32	-	-	-
15	Mol_2-2	-	-	-	3.87	-	-	-
16	Mol_2-3	-	-	-	3.25	-	-	-
17	Mol_2-4	-	-	-	0.18	+	+	+
18	Mol_2-5	-	-	-	1.57	-	-	-

要因解析 (QSTR) を行う上での インシリコによる二種類のアプローチ

(化学多変量解析/パターン認識によるアプローチ)

1. 仮感度型のアプローチ (安全性/毒性への適用困難/不可能)

構造-活性相関 (QSAR)、ドッキングアプローチ

2. 発見型のアプローチ (安全性/毒性への適用可能)

化学多変量解析/パターン認識によるアプローチ

* データ解析により、高い分類率や相関係数を実現する時に用いられる最終パラメータは、対象サンプル群の分類やフィッティングに重要な役割を果たす。

発見型による要因解析(QSTR)実施事例

芳香族アミン化合物の発癌性予測

Kohtaro Yuta and Peter C. Jurs, *J. Med. Chem.*, 24, 241 (1981)

発癌性と解析目的、および解析上での留意点

同一化合物が実験動物、発ガン部位、投与手法等の差により発ガン性に大きな差異がある

解析目的： 要因抽出を主目的とする

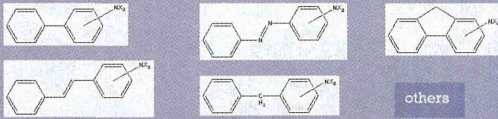
1. 発ガン部位や、投与手法の差異に影響されない
発ガン要因の抽出 → 発ガンに極めて本質的な要因
2. 発ガン部位の差異や、投与手法の差異を反映した
発ガン要因の抽出 → 特殊要因を反映した要因

- 解析上での留意点:
1. 解析手法に起因する問題点をクリアする
 - ・ 細かい初期条件の差異による解析結果の変動のクリア
 - ・ サンプル数の変動による解析信頼性のクリア
 2. その他の留意点
 - ・ 可能な限り最悪のケースで比較的美い分類、予測率の達成
 - ・ 情報取だしに有利なパラメータを優先する

解析に用いた芳香族アミン化合物データセット

1. 使用化合物群

総数：157化合物



2. 発癌性データ

実験動物：Rat
 投与方法：oral, subcutaneous injection, topical, intraperitoneal injection, various routes, not available
 発現部位：breast, earduct, liver, other sites, all sites

使用データ例 (化合物1~15)

compounds	breast	earduct	liver	other	all	mixed data
1. 4-biphenylacetamide	po	+	+	-	+	+
2. 4-biphenyldimethylamine	po	+	+	-	+	+
3. 4-biphenylacetohydroxamic acid	po	+	+	+	+	+
4. 2-fluoro-4-phenylaniline	po	+	-	-	-	+
5. 3-fluoro-4-phenylaniline	po	+	-	-	-	+
6. 2-methyl-4-phenylaniline	po	-	+	-	+	+
7. 3-methyl-4-phenylaniline	po	-	-	-	-	-
8. 2'-methyl-4-phenylaniline	po	-	-	-	-	-
9. 4'-methyl-4-phenylacetamide	po	-	-	-	-	-
10. 3,2'-dimethyl-4-biphenylamine	po	+	+	-	+	+
11. o,o'-diaminidine	po	-	na	-	-	-
12. 3,3'-dichlorobenzidine	po	+	+	-	+	+
13. 3,3'-dihydroxybenzidine	po	-	-	-	-	-
14. 2-methylacetylebenzidine	po	-	-	na	-	-
15. 4,1'-methylbenzidine	po	+	-	+	+	+
16.						

Survey of Chemicals Which Have Been Tested for Carcinogenic Activity, U.S. Department of Health, Education and Welfare, U.S. Public Health Service, National Institute of Health, D.B.C. Laboratory, 610 Green St., Chemical Carcinogenesis and Cancer, Charles C. Thomas, Springfield, Ill., 1964.

初期創出パラメータセット

初期パラメータセット：約200(種類/化合物)創出

- トポロジカルパラメータ (2次元構造情報)
 - 分子パスパラメータ
 - 分子結合パラメータ
- トポグラフィカルパラメータ (3次元構造情報)
 - シャドウパラメータ
 - 分子主成分パラメータ
- 理論化学的パラメータ
 - 分子軌道法関連パラメータ
 - 分子力学関連パラメータ
- 化学特性パラメータ
 - 種々物性 (分子屈折率、分子表面積、分子容、その他)
 - 原子 (総原子数、個々の原子数)、種々結合数、環数、その他
- その他のパラメータ
 - 演算パラメータ
 - 部分構造パラメータ

使用部分構造リスト



既存仮説の検証目的：
 1. N-hydroxylation theory ; SS2, SS7
 2. o-hydroxy theory ; SS3, SS4
 3. co-planarity of biphenyl structure ; SS9, SS12, SS13

パラメータの出現パターン

param. no.	total	oral admin. group	total
1	1	1	1
2	1	1	1
3	1	1	1
4	1	1	1
5	1	1	1
6	1	1	1
7	1	1	1
8	1	1	1
9	1	1	1
10	1	1	1
11	1	1	1
12	1	1	1
13	1	1	1
14	1	1	1
15	1	1	1
16	1	1	1
17	1	1	1
18	1	1	1
19	1	1	1
20	1	1	1
21	1	1	1
22	1	1	1
23	1	1	1
24	1	1	1
25	1	1	1
26	1	1	1
27	1	1	1
28	1	1	1
29	1	1	1
30	1	1	1
31	1	1	1

パターン1：総てに高い出現回数を持つ
 [≥ 8] 3, 7, 8, 9, 13, 14, 18, 19, 21, 24, 26, 31

発ガン部位や投与方法の差異に影響されない、
 発ガンに本質的に重要な要因

パターン2：グループ内で高い出現回数を持つ
 [≥ 4]
 mixed admin. group: 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 11, 15, 17, 18, 19, 20, 21, 24,

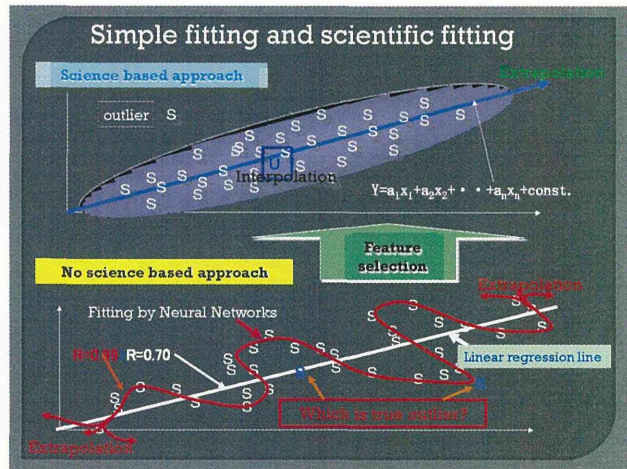
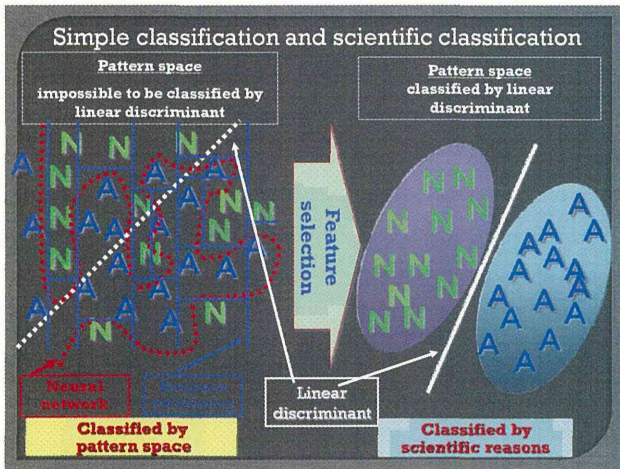
oral admin. group: 3, 7, 8, 13, 14, 21, 23, 26, 31

個々の投与方法に高い影響を及ぼす要因

最終パラメータセット(パターン1)

発ガン部位や投与方法の差異に影響されない、
 発ガンに本質的に重要な要因

3. number of nitrogen atoms	18. largest principal moment
	19. intermediate principal moment
	21. ratio of largest to smallest principal moment
7. number of basis rings	
8. number of ring atoms	
9. path 3 molecular connectivity	24. molecular connectivity environment: 343
	26. molecular connectivity environment: 343
13. molecular connectivity environment: 343	
14. molecular connectivity environment: 343	
	31. number of P = Cl + I + S



□その他のデータ解析実施上での留意点 (1)

- 1. 実験データの品質の悪い**
 - 実験者の違いがデータ解析に及ぼす影響
 - 状況：サンプル数が少ないので決定的なデータ解析が出来なかった。
 - サンプルの追加を依頼して追加したが、期待反して解析が進まなくなった。
 - 初期サンプルと追加サンプルをクラスタリングしたら2クラスターにわかれた。
 - 原因：実験の実施者が異なった。実験プロトコルは同じと言うが・・・
 - * 初期サンプル⇒教授自ら実施、追加サンプル⇒学生が実施
- 2. データ解析実施過程での単純操作ミス**
 - サンプルデータの移し間違い
 - 状況：渡されたサンプルを用いてデータ解析実施し、研究者に報告。
 - 研究者がデータ解析結果に疑義を持って、納得しなかった。
 - 原因：EXCELで渡されたサンプルデータのコピーミス。一行ズレてコピーした。
 - * 内容が分からないと、データ解析を実施した後での検証が出来ない。
 - 内容の分かる専門研究者のチェックが必要
- 3. 実験プロトコルでの詳細な条件の違い**
 - 一つの実験に様々なバリエーションがある時の処理：Ame s 試験データ Mix
 - (菌種の違い：TA98、TA100、TA1535、WP-2、他)
 - (代謝活性化法：S9 mix)
 - 実験条件の差異が収集サンプル数に大きな影響を及ぼす。

□その他のデータ解析実施上での留意点 (2)

- 1. サンプル収集に関する注意事項**
 - (a) サンプル数がデータ解析に及ぼす影響**
 - 状況：サンプル数や偏りが大きいと、安定かつ信頼性の高いデータ解析実施が困難。
 - * 解析実施上での絶対サンプル数
 - 解析手法の種類により最少サンプル数が異なる。
 - サンプル数が少くなるとパラメータ数との関係でデータ解析の実施困難となる。
 - サンプル数の偏りが大きいとデータ解析自体が出来なくなる
 - * サンプルの偏り (Q S A R と異なるので、化合物種に偏りが少ない方が良い)
 - (b) サンプルのデータ品質に関する留意点**
 - 状況：サンプル数を増やす目的で、ソースの異なるサンプルをまとめて扱う。
 - * 異なるデータソース (文献、データベース) から得られたサンプルの扱い
 - ・ 同一エンドポイントであっても、矛盾サンプルが存在する可能性がある
 - ・ 同一化合物であっても、化合物のコンピュータ上の扱いに差異がある
 - ・ ニトロ、ニトロソ、エノール、芳香族、多環縮合芳香族、有機金属、塩、他
 - ・ 立体情報の扱い上での問題
 - ・ 二次元から三次元に立ち上げる時の問題 (グローバルおよびローカルミニマ)

まとめ：

- 安全化 (毒性) 評価プロトコルの構築 (初期) 過程で、インシリコ技術の導入を前提とした設計や検討を行うことが必要。
- ・ WET だけ独立に実験プロトコル等決めるのは、実験等が組み立てやすくなる。しかし、その後のデータ解析やデータ処理が出来ない等の問題が起こりやすく、総ての成果を失いかねない事態となる。
- ・ 従来から行われていた専門外には相互干渉しないお預け型 (流れ作業形式) の共同研究は、全体に責任を持つことが出来ない。問題のおしつけが起こりやすく、プロジェクトの完成度や運用に問題が残ることとなる。
- InPisの実験によるデータを用いたインシリコ安全性 (毒性) 予測は極めて新しいアプローチであり、今後手厚く保護されることになる。
- インシリコ技術との連携を目指す場合は、適用技術範囲が極めて広範囲に及び、研究領域を超えた共同プロジェクトによる展開が必須となる。

このようなアプローチが肝毒性予測で求められている

提案：

- WETでの実験とDRYでの実験での橋渡し
 - ・ 初期の段階から、協調しつつ実験プロトコルを設計することが望ましい
- サンプル収集は特に重要となる
 - ・ サンプル数、ポピュレーション、化合物種等への配慮が必要 (不十分な場合はデータ解析そのものが実施不可能となる)
- サンプルデータの保存方法等に留意する
 - ・ 構造式のコンピュータへの入力手法や書き方のルール決定、他のデータベースとの整合性チェック、他
 - ・ WET実験プロトコルを全世界に広め、相互活用可能とするには、実験プロトコルのみならず、インシリコ関連プロトコルの統一も必要
- 関連情報のまとめと共有
 - ・ 実験に関する関連情報の保存や、活用を前提としたデータ種類の収集とそのユニバーサルな保存方法の検討
- 単なるWETとDRYの連携から、より高度な連携への展開
 - ・ 機能の単純結合と相乗効果を持つ結合は異なる。より互いの研究領域への相互理解を深めるような議論が必要である。

「hiPSC-肝細胞とインシリコのデータ融合による
安全性予測／メカニズム解析に向けた考察」

ご清聴ありがとうございました

(株) インシリコデータ 湯田 浩太郎
国立医薬品食品衛生研究所薬理部 石田 誠一

