

平成 28 年度 厚生労働行政推進調査事業費補助金（化学物質リスク研究事業）
総括研究報告書

研究課題名：化学物質のヒト健康リスク評価における（定量的）構造活性相関および、
カテゴリーアプローチの実用化に関する研究
（H27-化学-指定-005）

研究代表者 本間 正充 国立医薬品食品衛生研究所変異遺伝部 部長

研究要旨

現在、世の中には数万種に及ぶ既存化学物質が安全性評価未実施のまま流通しており、それら化学物質のリスク管理は、世界的な課題となっている。本研究では、規制の対象となるすべての化学物質のヒト健康リスクを評価するためのインシリコ手法を確立することことを目的とする。具体的には、カテゴリーアプローチと、構造活性相関（QSAR）手法により、各種毒性エンドポイントを定性・定量的に予測する手法を開発、改良し、化学物質のヒト健康リスク評価に利用することを実現させる。

エームス試験に関しては、これまで構築してきた大規模データベース利用し、予測精度の向上を目指した競争的国際共同研究を実施している。H28年度はPhase IIトライアルとして3,829化学物質のエームス変異原性の予測に世界7カ国、12のQSARベンダーが提供する16のQSARモデルが挑戦した。多くのQSARツールの予測精度は比較的高く、実際のエームス試験との一致率は75-87%であった。Phase Iでの一致率は68-84%であったことから、本共同研究は成功裡に推移していることが示された。

In silico 評価システム Derek Nexus における *in vitro* 染色体損傷の既存の構造アラートに関し、*in vivo* 活性との相関性を評価した。構造アラートの *in vivo* 染色体損傷（小核）データセットに対する予測性を評価し、次にアラートの妥当性を評価した。構築した広範なデータベースに基づき、化学物質の生体内活性と試験デザインまたは遺伝毒性メカニズムとの関連性ととも、アラートを新規に構築あるいは更新した。その結果、Derek Nexus の *in vivo* 染色体損傷予測性は著しく改善された。

反復投与毒性については、化学構造から計算される記述子や部分構造をもとに無毒性量（解析にはNOEL（無影響量）を用いた）を基準とした毒性クラスを判定する統計的予測評価モデルを構築した。ターゲット基準値を200mg/kg/dayとした毒性クラス判定を行うモデルを構築し、既存化学物質点検データセットを外部検証用データとして予測精度の検証を行った結果、sensitivity、specificityいずれも80%を超える予測精度が得られたことから、適用範囲（評価モデルのcoverageは約70%）の化学物質のスクリーニング評価における有用性が示された。

肝毒性エンドポイントに関連するKey Eventと生体内経路プロファイルとの組み合わせにより構築した予測モデルを改良する目的で、Key Eventモデルの適用可能範囲の定義とWhichCypの予測利用、化合物の求電子性炭素原子の部分電荷、Key Eventのリードアクロ

スモデルの類似性カットオフの較正を行った。Key Eventプロファイラーの継続的改善を行うことにより、予測性能の信頼性向上が見込まれる。

OECDで2015年より開始されたIATA Case Studies Projectは、反復投与毒性を予測する手法のひとつとして、カテゴリーアプローチの行政的利用のため、適正なグルーピング手法の評価事例をメンバー国で共有し、IATAの国際的なガイダンスを作成することを目指している。そこで、我々は、アリルエステルの肝毒性をもとに、IATAケーススタディの文書を作成し、メンバー国の専門家によるレビューを受けた。

キーワード：定量的構造活性相関(QSAR)、カテゴリーアプローチ、データベース、遺伝毒性、反復毒性、肝毒性

研究分担者

本間 正充

国立医薬品食品衛生研究所・変異遺伝部
部長

森田 健

国立医薬品食品衛生研究所・安全性予測評価部
室長

小野 敦

岡山大学・医歯薬学総合研究科

教授

広瀬 明彦

国立医薬品食品衛生研究所・安全性予測評価部
部長

山田 隆志

国立医薬品食品衛生研究所・安全性予測評価部
室長

リーアプローチは、コンピュータトキシコロジーの重要な研究分野であり、有害作用を引き起こす可能性が高い化学物質を、その化学構造から *in silico* で予測する手法である。これら手法は統合型毒性評価系の重要な構成要素の1つであり、安全性評価が必要とされる化学物質の優先順位付けや絞り込みに有用である。また、毒性試験における動物利用の大幅な削減にも貢献できる。

本研究では、化学物質のヒト健康リスク評価の効率化や動物愛護の観点からQSARやカテゴリーアプローチ手法の化学物質評価における実用化を目的として、それぞれについて規制へ適用可能な手法を構築および改良を行うとともに、最終的に得られた成果を基にした評価戦略の提案を行うことを目的としている。

エームス変異原性に関しては、これまで我が国で行われたエームス試験データを収集し、大規模データベースを再構築してきた。本データベースもつ化学物質の種類は世界最大規模になると予想され、かつ、個々の試験はOECDガイドラインに従い、GLP管理下で行われた試験であるため、信

A . 研究目的

化学物質の規制に関わる国際機関や、各国規制当局の最近の関心の焦点は、規制の対象となるすべての化学物質を実験的に試験することなく、有害作用を引き起こす化学物質を同定するための単純なスクリーニングツールを確立することにある。定量的構造活性相関(QSAR)およびカテゴ

頼性の高いデータベースである。このデータをベンチマークデータセットとして、世界中のQSARベンダーに提供し、全てのQSARツールの予測率の向上を目指した国際共同研究を実施している（本間）。

*In vitro*染色体損傷試験で陽性結果が得られた場合、当該化学物質は遺伝毒性を示す可能性がある。しかし、多くの場合、*in vitro*試験で認められた結果が*in vivo*遺伝毒性試験でも反映されるかどうかの予測は容易ではない。そこで、種々の情報と化学物質の想定曝露条件を組み合わせ、最適な*in vivo*試験デザインによる試験結果を基に、個々の*in vitro*染色体損傷アラートと*in vivo*活性との関連性を評価し、最適な染色体損傷アラートを構築することを目的とした（森田）。

反復投与毒性については、評価対象物質について既知情報からの評価が可能であるか判定するスキームを構築し、判定結果に応じて、化学構造からの評価が可能と判断された物質については化学構造を指標として可能な限り効率的なリスク評価を行う。類似物質について毒性情報が得られておらず化学構造のみからの評価が困難と判断された化学物質について、基本的な化学構造的特徴と短期毒性試験結果をもとにした毒性クラス判定を行い、段階的評価スキームを構築することにより、信頼性の高い効率的なリスク評価手法の開発を目的とした研究を進めている。本年度は、リスク評価において重要となる無毒性量評価のための化学構造記述子を用いた統計学的評価モデルの構築と検証を行った（小野）。

これまで肝毒性エンドポイントに関連するkey eventを予測し、生体内経路の攪乱に関与する化合物群のプロファイルと組み合

わせることにより予測モデルの構築を試みてきた。このプロファイラーは肝毒性反復投与データセットに対して比較的良好な感度を示したが（60%）、特異度は低かった（44%）。これは、特定のKey Eventのアクティブ化が臓器毒性につながる代謝に関連する因子について、ほとんど考慮しなかった可能性もある。今年度は、各Key Eventモデルの適用可能範囲の定義とWhichCypの予測利用、化合物の求電子性炭素原子の部分電荷、Key Eventのリードアクロモデルの類似性カットオフの較正による改良を行った（広瀬）。

カテゴリーアプローチは、反復投与毒性のような複雑な毒性エンドポイントを予測する手法のひとつとして期待されているが、行政的受け入れは十分に進んでいない。検証の不足、成功事例の不足、国際的なガイドラインがないこと、本手法を理解する評価者が不足していることが理由として挙げられる。本研究では、カテゴリーアプローチによる反復投与毒性の予測事例を本プロジェクトへ提案し、専門家レビューを受けることにより、本手法開発促進のため国際貢献を果たすと共に、化審法スクリーニング評価へ本手法を適用するときの課題を整理することを目的とする（山田）。

B. 研究方法

B.1. エームス変異原性の予測精度の向上（本間）

安衛法によって実施された約20,000化学物質のエーム試験結果を精査し、QSARの開発に有用である12,451化学物質（内エームス陽性1,776化合物）をデータベース化した。そのうち3,829化合物のデータを共同研究のPhase IIデータとした。これらエーム

ス試験の結果以下の3つに分類される。

- Class A: エームス試験における比活性値が1,000 rev/mg以上の強い陽性と判定される物質 (253物質)
- Class B: エームス試験における比活性値が1,000 rev/mg未満の陽性判定物質 (309物質)
- Class C: エームス試験における陰性判定物質 (3,267物質)

Phase II 国際共同研究は世界7カ国、12のQASRベンダーが共同研究に参画した。合計16のQSARツールが評価に提供され、Phase IIトライアルにチャレンジした

B.2. 新規*in vitro*染色体損傷アラートの抽出とその*in vivo*染色体損傷アラートへの適用 (森田)

選択した *in vivo* 染色体異常試験のデータセットを整理・統合し、この大規模データセットを Derek Nexus において *in vitro* 染色体損傷のエンドポイントに対して処理し、Derek Nexus の各 *in vitro* 染色体損傷アラートの *in vivo* データに対する予測性能を評価した。 *In vitro* アラートが *in vivo* データを十分に予測し、かつ、同じメカニズムが関与すると考えられる場合には、当該アラートを拡大し *in vivo* 活性の予測に適用した。

B.3 構造活性相関モデル構築手法の比較と利用に関する研究 (小野)

モデル構築のためのデータセットとして Munro ら(Munro IC et.al., (1996) Food and Chemical Toxicology, 34, 829-867) により、Cremer ルールの検証に用いられたデータセットを用いた。予備的なモデル構築のため評価ターゲット用量

200mg/kg/day で用意したデータセットを用い、ADMEWORKS/ModelBuilder により記述子を用いた約 2000 モデルを構築して、内部検証より予測精度が高かった 4 モデルの予測結果を用いた。最終的なモデル構築においては、モデルの適用範囲となる分子量を MW=200~500 と MW=100~600 とした 2 モデルを構築した。モデル構築においては、Munro データセットから各モデルの適応範囲に該当する物質を学習母集団として選択して用いた。構築した評価スキームについて、化審法既存点検試験により毒性試験が実施された物質を外部検証用データとして、予測精度の検証を行った。

B.4. 反復投与毒性を指標にした構造活性相関モデルに関する研究 (広瀬)

リードアクロスモデルに用いる所定の当該 Key Event データセットの一連の RDKit 記述子の最大値と最小値を考慮し、各 Key Event モデルの適用可能範囲を定義した。WhichCyp は、Lhasa 社が KNIME 解析プラットフォームに統合したウェブサービスである。WhichCyp 予測アウトカムは、プロファイラーにおいて、DX 知識ベースにマッピングされた Key Event に統合した。Key Event モデルについてのリードアクロスは、類似性係数スコアのカットオフ(0.69)以上の化合物を検討対象としている。Key Event データセットに「陽性」および「陰性」の化合物の両方がある場合、最もバランスのとれた正確度を達成するために、5 層交差バリデーション法を用いてそれらの類似性カットオフを較正することにより、Key Event のリードアクロスモデルを改良した。

B.5. 反復投与毒性のカテゴリアプローチモデルの開発 (山田)

カテゴリーアプローチによる反復投与毒性の評価事例を継続的に提案しており、本研究ではそのうちのひとつ（アリルエステルの肝毒性）をもとにして、以下のOECDのIATAテンプレートに従って、IATAケーススタディの文書を作成し、メンバー国の専門家によるレビューを受けた。

*OECD IATA テンプレートの構成：

- ・ 目的
- ・ カテゴリーアプローチの仮説
- ・ カテゴリーメンバー
- ・ データギャップ補完の正当化
- ・ データギャップ補完の戦略と結論
- ・ 引用文献
- ・ Annex

*専門家レビュー：

ケーススタディの査読を受け、コメントに従って適宜修正した。さらに、ケーススタディ作成者、査読者、並びにOECD事務局による対面会議によって、ケーススタディのレビュー結果について議論が深めた。

C. 結果

C.1. エームス変異原性の予測精度の向上（本間）

2016年8月までに12のQSARベンダーに3,829化合物の情報を送付した。情報は、管理番号、CAS#、化学物質名、SMILESである。2016年11月末までに参加機関のQSARツールによるエームス試験判定予測結果を回収し、予測精度を評価した。最終的にはすべての判定結果を“陽性 (positive)”、“陰性 (negative)”、“不適用(unapplicable)”に分類した。不適用化合物は、予測対象化合物からは外し、陽性もしくは陰性と判定されたもので“適用率 (applicability)”を計算した。基本的な能力評価として、感度

(Sensitivity)、特異度 (Specificity) を用いた。感度はエームス陽性を陽性と判定できる能力で、さらに変異原性の強い物質の感度 (A-Sensitivity) を別に計算した。

15のモデルの内、Phase Iの結果をトレーニングセットしてモデルに組み込んだことを確認できたモデルは8モデルであった。DEREKやToxtreeのような知識ベースQSARモデルはルールの開発に時間がかかるためモデルの改良は困難であった。一方、統計ベースモデルは簡単に組み入れることができた。特に高いA-sensitivityを示したのはMCASEのCASEUltraであり、89.5%であった。また、Specificity85.6%、Concordance83.5%と極めて良好な結果を示した。他に高いA-sensitivityを示したのはプルウスのSymmetry(81.7%)、MCASEの知識ベースGT-Expert(84.1%)、ブルガス大のTIMESで(80.0%)、高いSpecificityを示したのはSwetoxのAZAMES(92.8%)、ラーサのDEREK(90.1%)、ブルガス大のTIMES(93.5%)、リードスコープのLSMA(90.6%)であった。概して、Phase IではA-Sensitivity 51-81%、AB-Sensitivity 39-70%、Specificity 65-92%、Concordance 68-84%、これがPhase IIでは59-90%、45-72%、78-93%、75-87%と全て増加した。このことはこの共同研究が順調に推移していることを示している。

C.2. 新規in vitro染色体損傷アラートの抽出とそのin vivo染色体損傷アラートへの適用（森田）

本研究前ではDerekにおけるin vivo染色体損傷の予測能力は限定的で、知識ベース内の同エンドポイントに対するアラートはわずか10種であった。本研究の結果、in vivo

染色体損傷のエンドポイントに関するアラートが33種類（既存のアラート10種と本研究で開発した新規アラート23種）構築され、さらに、*in vitro*染色体損傷に関するアラート9種が更新された。

C.3 構造活性相関モデル構築手法の比較と利用に関する研究（小野）

Munroらのデータセット(613物質)から、解析ソフトADMEWORKS/ModelBuilder (MB)で対応できない金属系、イオン系及び混合物を除外した505物質のうちNOEL基準200で分類された483物質(強毒性:345物質、弱毒性138物質)を学習母集団として、パラメータを変更しながら約2000回のモデル構築を行い、予測精度の高い上位4モデルを用いて、既存点検データセット183物質、Munroデータセット483物質の分類を実施して、基本的な物性の予測精度の関連を検証した。分子量が200未満もしくは500以上の物質では予測精度が悪く、一方、水素結合供与基の有無により予測精度に違いがあることが示された。

分子量の適用範囲を限定したモデルとして構築した分子量200~500、100~600を対象としたモデルの分子量適用範囲の物質については、分子量を限定したモデルと水素結合供与基の有無によるモデルの2モデルの評価結果が一致した場合のみ評価結果を採用し、分子量適用範囲外の物質については、水素結合供与基の有無によるモデルの評価結果のみから評価を行う評価スキームを構築した。内部検証結果ではいずれのケースでもsensitivityは90%以上を超えた。specificityは、評価対象を分子量200~500の物質のみに限定した場合には85%、分子量の高いものに評価対象を広げたケースで

は、74~75%であった。一方、外部検証では分子量100~600のモデルを用いた場合、sensitivity = 92%、specificity = 80%を達成した。分子量200~500モデルにおいても同程度の予測精度が得られたものの、coverageは30%であった。これは、既存化学物質データセットには分子量200未満の化学物質が多く含まれるためである。

C.4 反復投与毒性を指標にした構造活性相関モデルに関する研究（広瀬）

WhichCypをKey Event プロファイラーに統合した結果、特異度が上昇し、感度が低下した。Key Event モデルの陽性適中率が上昇した反復投与毒性データセットを作成したプロファイラーで処理して毒性予測を行った結果、感度は57%で、特異度は44%となった。プロファイラーに用いた30のKey Event データセットがあり、このうち16は陽性および陰性両方の注釈を包む。12のリードアクロスKey Event モデルのカットオフ値を較正した。選択したリードアクロスKey Event モデルに対して最もバランスのとれた正確度が得られるカットオフを求めた。カットオフ値は0.45から0.85の範囲にあり、それらのうち2つ、すなわちMMP阻害物質とPPARdelta結合物質については、経験に基づく値0.69に非常に近い。これらの較正したカットオフ値をKey Event プロファイラーに統合した。

C.5 反復投与毒性のカテゴリアプローチモデルの開発（山田）

今回のケーススタディは、化審法の化学物質のリスク評価におけるハザード同定に適用するために作成された。肝毒性物質が、アシルエステルの共通代謝産物であるアク

ロレインである AOP の仮説に基づいて、反復投与時の肝毒性エンドポイントについて、19 のアリルエステルから構成されるカテゴリーが形成された。カテゴリーは、直鎖アルキル鎖を有するアリルエステル、および分岐アルキル鎖を有するアリルネステルの 2 つのサブカテゴリーに分類された。試験データを持たない 15 のカテゴリーメンバーの NOAEL 値を、リードアクロスによって予測した。本ケーススタディは、スクリーニング評価、優先順位付け、分類などの加盟国の規制目的のために使用することができるであろうと考えられた。本ケーススタディの結果は、REACH 登録のための情報要件を満たさない可能性が高いので、REACH の登録目的には使用できない。しかし、近い将来、そのようなケーススタディの結果は、日本の化審法のもとで使用されうると考えられる。

D. 考察

D.1. エームス変異原性の予測精度の向上 (本間)

今回の 3,829 化合物の予測精度に関しては、ICH-M7 を契機にエームス試験の予測性の向上に積極的に取り組んでいるラーサ社、マルチケース社、リードスコープ社の QSAR ツールの予測性に期待が持たれた。3 社は、知識ベース、統計ベースの両者のモデルをコマーシャルベースで提供している。概して、3 社の QSAR ツールは Sensitivity、Specificity とともにバランスがよく、81 ~ 86 % の一致率 (Correspondence) を示した。特に、規制当局が懸念する A-Sensitivity に関しては、MCASE の CASEUltra が 89.5 % を示し、ROC 解析でもバランスの取れた予測結果を示した。しかしながら、

CASEUltra の Applicability は 65.3 % と他の QSAR ツール (80-100 %) に比べて著しく低かった。予測率を上げるために Domain 構造を限定することは、Out of Domain となり評価不可能な状況になることが多くなると考えるが、安全性を担保する考えからすれば正当で有る。一方、Out of Domain となった場合は実際の試験を求められるため、スクリーニングの役割としてはその利用価値が低下する。着実にデータを蓄積し、ケミカルスペースを拡大し、確実な構造アラートを開発していくストラテジーが重要である。

同様にブルガス大学の TIMES モデルも高い Sensitivity を示したが、適用ドメインが 18 % と極めて低かった。TIMES には薬物代謝モデルが組み込まれているが、本プロジェクトでは化学物質の代謝情報に関しては開示していない。今後、TIMES のようなモデルの向上には、エームス試験の S9 の条件の有無、仕様菌株の情報などが必要と考えられる。

A-Sensitivity が低いツールとして、前回、スウェーデンの AZMES、スペインの Symmetry、ブルガリアの AMBIT、日本の ADMEWORKS が挙げられた。このうち、AZMES と Symmetry に関しては、Phase II で 20 % 以上の A-Sensitivity の向上が認められた。これはモデルの改良が着実に進んでいることを示している。概して、Phase I の結果をモデルにトレーニングデータとして取り入れたツールで、大幅な予測率の向上が認められた。

D.2. 新規 *in vitro* 染色体損傷アラートの抽出とその *in vivo* 染色体損傷アラートへの適用 (森田)

特異的メカニズムを介して染色体損傷を引き起こす化合物クラスに関して、知識ベースに既存の知識 (*in vitro* 染色体損傷アラート) と *in vivo* 染色体損傷データセットとを組み合わせることで活用することにより *in vivo* 染色体損傷に関する予測 *in silico* システムを開発するのが本研究のアプローチである。しかしながら、残りのアラートを評価する利用可能な *in vivo* データが限られているため、*in vivo* 染色体損傷のエンドポイントに対する感度を向上させるためには本研究の手法には限界がある。今後は関連する他のエンドポイントに対するアラートの調査や *in vivo* データのみに基づくアラートの開発といったアプローチが、*in vivo* 染色体損傷エンドポイントの予測能向上に寄与すると考えられる。

D.3. 構造活性相関モデル構築手法の比較と利用に関する研究 (小野)

本年度は、化学構造から計算される記述子や部分構造をもとに無毒性量 (解析には NOEL (無影響量) を用いた) を基準とした毒性クラスを判定する統計的予測評価モデルを構築してスクリーニング評価への適用性について検討を行った。本研究では、分子量適用範囲を、200~500と100~600に限定した評価モデルと、水素結合供与基の有無を適用範囲とした評価モデルを構築し、これらを組み合わせることで評価を行う評価スキームを構築した。また、モデル構築には、既存化学物質データセットより多くの化学物質情報を含む Munro らの報告による毒性試験データセットを学習母集団として用い、ターゲット基準値を 200mg/kg/day とした毒性クラス判定を行うモデルを構築し、既存化学物質点検データセットを外部検証用

データとして予測精度の検証を行った。結果として、分子量適用範囲を、100~600の評価スキームを用い評価対象分子量を100~600とした場合において、ある程度のカバー率 (68%) を確保した高精度の予測が可能であることが示された。さらに、分子量適用範囲100~600の評価スキームでは全物質対象の評価結果においても sensitivity は、若干下がるものの sensitivity、specificity いずれも 80% を超える予測精度が得られたことから、本研究で構築した評価スキームはスクリーニング評価において十分実用的であると考察される。一方で、分子量適用範囲100~600の評価スキームでは全物質対象とした場合でも、coverage が 77% であった。これは、分子量適用範囲内の物質のうち、分子量モデルと水素結合供与基モデルの評価結果が一致しないため判定結果が得られなかった物質が多くあることによる。

D.4. 反復投与毒性を指標にした構造活性相関モデルに関する研究 (広瀬)

反復投与毒性試験データの肝毒性プロファイラーにより予測した「偽陽性」の数は 68 減少した一方で、「偽陰性」の数は 45 増加した。全般的に、正確度は変化しなかったにも関わらず、予測はより良好なクオリティの状態にあるという傾向が見られた。また、これまでの作業が円滑に行えるように、Instant JChem を利用して可視化ツールのプロトタイプを作成した。このツールは、Key Event プロファイラーの結果を示すわかりやすい明確な方法を提供するとともに、潜在的な肝毒性物質としてのクエリー化合物について決定する際に役立つと考えられる。プロファイルが示されなかったクエリ

ー化合物は、Key Eventプロファイラーにおける不足を示唆しており、こうした不足に対して追加のデータを検索することが必要となる。例証化合物としては、TO901317、ロテノンおよびジルロタピドが挙げられる。TO901317はLXR核受容体の既知のアゴニストであり、実際、現在のプロファイラーにはLXRアゴニストに関するデータが全くない。この可視化ツールを用いる同じ手法では、Key Eventプロファイラーがカバーしない毒性のメカニズムに対しても適用できる。定量的な方法で可視化ツールのプロトタイプを用いて行う予測の正確度/精密度を明確に示すのは困難であることがわかったにも関わらず、このアプローチによって、知識/データの不足を埋められるおよび/または見つけ出せる可能性がある。予測の正確度の質的評価は、許容可能であることがわかった。今後の研究として感度と特異度の両方を向上させるためには、偽陰性や偽陽性の化学物質クラスの解析等を行うことによって、様々なkey eventを予測する方法をさらに調査することが有用であることが示された。

D.5. 反復投与毒性のカテゴリーアプローチモデルの開発 (山田)

2015年度のOECD IATA Case Studies Project (第1サイクル)では、本ケーススタディを含めて計4つのケーススタディが提出され、レビューが行われた。レビューの経験から、ケーススタディが使用されるスコープおよびフレームワークを非常に明確に記述することが必要かつ重要であることが強調された。これは、ケーススタディによってどのような側面が対処されるか、どのレベルのレポートが要求され、

どの程度の不確実性が受け入れられるかについての情報を提供する。レビューによってケーススタディで特定された不確実性のいくつかは、サブカテゴリーの組み込み、より詳細な議論の提供、QSAR予測のサポートなど、さまざまな方法で低減された。これは、ケーススタディを改善するのに不確実性を考慮することが有用であることを示しているが、他方で不確実性は残っており、この場合、不確実性の分析は、レビューアが不確実性の影響とケーススタディの使用目的に関する不確実性の許容度を考慮するのに役立った。不確実性の記述とコミュニケーションの重要性は、IATAのさらなる経験を得るための重要な分野として特定された。

E. 結論

エームス試験予測QSARモデルの向上を目指した国際共同研究を実施している。日本で実施された安衛法に基づくエームス試験データから、QSARモデルの開発に有用と考えられる、12,451化学物質をデータベース化した。H28年度はこのうち3,829化合物について、エームス試験結果の予測精度を競うPhase IIトライアルを行った。世界7カ国から、12のQSARベンダーがこの国際競争に参画し、21のQSARツールについて予測精度の評価を行った。多くのQSARツールの予測精度はPhase Iトライアルと比較して大幅向上された。特に、強いエーム陽性化学物質見逃す確率は大きく減少した。このことは、本共同研究が成功裡に推移していることを示すのものである。今後、さらにPhase IIIトライアルを実施し、さらなる予測性の向上を目指す。

*In vivo*染色体損傷のエンドポイントに関

するアラートが33種類構築され、さらに、*in vitro*染色体損傷に関するアラート9種が更新された。

反復毒性については、化学構造から計算される記述子や部分構造をもとに無毒性量（解析にはNOEL（無影響量）を用いた）を基準とした毒性クラスを判定する統計的予測評価モデルを構築した。モデル構築には、Munroらの報告による毒性試験データセットを学習母集団として用い、ターゲット基準値を200mg/kg/dayとした毒性クラス判定を行うモデルを構築し、既存化学物質点検データセットを外部検証用データとして予測精度の検証を行った結果、分子量適用範囲を、100~600の評価スキームにおいて、sensitivity、specificityいずれも80%を超える予測精度が得られた。構築した評価モデルの適用範囲の化学物質については、評価モデルから信頼性の高いスクリーニング評価が可能であることが示された。本研究で構築を進めている、化学構造から適用可能な評価手法を判定し、評価を行う評価スキームは、評価未済みの化学物質のスクリーニング評価の効率化へ寄与するものと結論される。

肝毒性につながるKey Eventの統計学的なモデル化について、リードアクロスの類似性閾値を較正することで改善され、適用可能範囲ルールを肝毒性プロファイラーに統合した。リードアクロスKey Eventモデルの適用可能範囲は、化学的記述子(RDKit)の最小値と最大値で定義した。肝毒性のメカニズムが既知の化学物質に対する予測で例証されるInstant JChemを用いて、プロファイラー予測用の可視化ツールを設計することとした。このツールは、Key Eventプロファイラーの結果を示すわかりやすい明確な方法を提供するとともに、

潜在的な肝毒性物質としてのクエリー化合物に関して決定する際に役立つ。

IATAケーススタディの文書については、メンバー国の専門家より、カテゴリーメンバーとその代謝、毒性、作用機序などのデータの収集の方法の詳述、リードアクロスを行うときの類似物質の選択の適切性、構造的な差異が別の毒性を引き起こす可能性についての説明、カテゴリーの構造領域の明確化、リードアクロスに用いる試験データの信頼性を評価すること、ヒト関連性について情報を追加し補強すること、不確実性の半定量化などが求められ、修正版文書でこれらを反映させ、対面会議で了承を得た。いずれもカテゴリーアプローチの透明性、再現性、信頼性を確保するために重要であり、今後、本手法を別のカテゴリーに適用するときにも有用である。ケーススタディを通じて共有された経験は、OECD加盟国におけるカテゴリーアプローチを含むIATAの使用を拡大するための方法として有望である。

F. 健康危機情報

なし

G. 研究発表

誌上発表

1. Manganelli S, Benfenati E, Manganaro A, Kulkarni S, Barton-Maclaren TS, Honma M; New quantitative structure-activity relationship models improve predictability of Ames mutagenicity for aromatic azo compounds. *Toxicol Sci.* 153, 316-326 (2016)

2. Petkov PI, Schultz TW, Donner EM, Honma M, Morita T, Hamada S, Wakata A, Mishima M, Maniwa J, Todorov M, Kaloyanova E, Kotov S, Mekenyan OG; Integrated approach to testing and assessment for predicting rodent genotoxic carcinogenicity. *Journal of Applied Toxicology*, 36, 1536-1550 (2016)
 3. Benfenati E, Belli M, Borges T, Casimiro E, Cester J, Fernandez A, Gini G, Honma M, Kinzl M, Knauf R, Manganaro A, Mombelli E, Petoumenou MI, Paparella M, Paris P, Raitano G; Results of a round-robin exercise on read-across. SAR and QSAR in Environmental Research, 27, 371-384 (2016)
 4. Morita T, Hamada S, Masumura K, Wakata A, Maniwa J, Takasawa H, Yasunaga K, Hashizume T, Honma M; Evaluation of the sensitivity and specificity of in vivo erythrocytemicronucleus and transgenic rodent gene mutation tests to detect rodent carcinogens. *Mutat. Res.*, 802, 1-29 (2016)
 5. Ahlberg E, Amberg A, Beilke LD, Bower D, Cross KP, Custer L, Ford KA, Van Gompel J, Harvey J, Honma M, Jolly R, Joossens E, Kemper RA, Kenyon M, Kruhlak N, Kuhnke L, Leavitt P, Naven R, Neilan C, Quigley DP, Shuey D, Spirkl HP, Stavitskaya L, Teasdale A, White A, Wichard J, Zwickl C, Myatt GJ; Extending (Q)SARs to incorporate proprietary knowledge for regulatory purposes: A case study using aromatic amine mutagenicity. *Regul Toxicol Pharmacol.* 77, 1-12 (2016)
 6. Amberg A, Beilke L, Bercu J, Bower D, Brigo A, Cross KP, Custer L, Dobo K, Dowdy E, Ford KA, Glowienke S, Van Gompel J, Harvey J, Hasselgren C, Honma M, Jolly R, Kemper R, Kenyon M, Kruhlak N, Leavitt P, Miller S, Muster W, Nicolette J, Plaper A, Powley M, Quigley DP, Reddy MV, Spirkl HP, Stavitskaya L, Teasdale A, Weiner S, Welch DS, White A, Wichard J, Myatt GJ; Principles and procedures for implementation of ICH M7 recommended (Q)SAR analyses. *Regul Toxicol Pharmacol.* 77, 13-24 (2016)
 7. 大内 淳子、山田 隆志;化粧品安全性評価のためのコンピューター予測モデルの活用. *Cosmetic Stage*10, 1-8 (2016)
 8. Takahashi M, Matsumoto M, Yamada T, Ono A, and Hirose A; Summary information of human health hazard assessment of existing chemical substances, *Bull. Natl Inst. Health Sci.*, 134, 79-83 (2016)
- 学会発表
1. Honma M; AMES/QSAR International Collaborative Study.

- 17th International Conference on QSAR in Environmental and Health Sciences (2016.6、マイアミ、米国)
2. Ono A, Ciloy J, Matsumoto M, Takahashi M, Kawamura T and Hirose A: Development and validation of a QSAR model to classify chemicals for toxic potency of sub-acute repeated dose toxicity. 17th International Conference on QSAR in environmental and health sciences (2016.6、マイアミ、米国)
 3. 本間正充、増村健一、森田健；遺伝毒性発がん物質のリスク評価 第43回日本毒理学学会学術年会(2016.7、名古屋)
 4. Honma M; Current Topics in Genotoxic Toxicology. Symposium on Genetic Toxicology and Developmental Toxicology in Chinese Society of Toxicology (2016.8、ハイラル、中国)
 5. Ono, H. Jinno and A. Hirose: Evaluation of the OECD QSAR Toolbox in the screening of chemical sensitizer. The 14th International Congress of Toxicology (2016.10、Mメリダ、メキシコ)
 6. 本間正充；何故、今、変異原性in silicoなのか？日本環境変異原学会第45回大会(2016.11、つくば)
 7. Rathman JF, Benfenati E, Honma M, Kitazawa A, Raitano N, Yamada T, Yang C; Models Combined by Decision Theory to Enhance Outcomes in DGM/NIHS Ames/QSAR International Collaborative Study. 56th Annual Meeting of Society of Toxicology (2017.3、バルチモア、米国)
 8. 福地準一、北澤愛莉、平林啓司、本間正充；(Q)SARによる変異原性不純物の評価に対するエキスパートレビューに関する研究 日本薬学会第137年会 (2017.3、仙台)
 9. Yamada T, Honma M, and Hayashi M; Recent advances in Quantitative Structure Activity Relationship (QSAR) and read-across for chemical safety assessment. ICCA-LRI and NIHS Workshop (2016.6、淡路島)
 10. Yamada T, Hayashi Mand Hirose A; Development of read-across for chemical safety assessment. Asian Congress 2016 on Alternatives and Animal Use in the Life Science (2016.11、唐津)
- H. 知的財産権の出願・登録状況
なし