

**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)
分担研究報告書**

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)

分担研究課題名：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

研究分担者	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
研究協力者	高橋 美加	国立医薬品食品衛生研究所	安全性予測評価部	研究員
研究協力者	松本 真理子	国立医薬品食品衛生研究所	安全性予測評価部	研究員
研究協力者	川村 智子	国立医薬品食品衛生研究所	安全性予測評価部	研究員
研究協力者	Sebastien Guesne	ラーサ研究所		
研究協力者	Rachael Tennant	ラーサ研究所		
研究協力者	Lilia Fisk	ラーサ研究所		
研究協力者	Susanne Stalford	ラーサ研究所		

研究要旨

H28 年度は、昨年度に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、各リードアクロス 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 モデルの適用可能範囲を Key Event プロファイラーに統合した結果、予測性能は変わらなかったが、反復投与毒性データセットに対する性能数値計算から 7 種の化合物が out of domain となった。一連の CYP 酵素との結合予測は、Lhasa 社により KNIME に統合された WhichCyp ウェブサービスを利用し Key Event プロファイラーに統合した結果、特異度が上昇しが、感度が低下した。一方、部分的電荷の調査では、部分的電荷の記述子は、肝毒性化合物と非肝毒性化合物を識別できないことが示された。Key Event モデルの類似性係数スコアのカットオフについては、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した。これらの改良の結果、昨年度に比べて、特異度の上昇(44%から 52%に)と感度(57%から 49%へ)の低下が示されたが、正確度に変化は認められなかった。特異度の上昇で偽陽性の減少することができたが、低い感度は肝毒性につながる Key Event 不足を反映している。さらに適用可能範囲、生体内活性化、アラートや該当する Key Event、リードアクロスモデルの類似性係数を示す可視化ツールのプロトタイプを作成した。このツールを用いて 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と考えられる。

A. 研究目的

本研究に先立つ研究において、げっ歯類反復投与毒性データセットを用いて作成した肝毒性のラピッドタイプアラートをフルアラートへと発展させる研究を行ってきており、Derek Nexus における検出感度を、7%から 40%に上昇させることに成功してきた。しかし、公表論文の調査結果を用いて一つ一つアラートを検討するために相当の時間がかかることが問題点として挙げられてきた。そこで、昨年度は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連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た。この肝毒性 Key Event 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(1000 mg/kg 超でのみ活性を示す化合物を除外すると 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、ほとんどまたは全く考慮しなかった可能性もあった。そこで今年度は、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 のリードアクロスモデルの類似性カットオフの較正による改良を行った。

B. 研究方法

B-1 リードアクロスモデルの適用可能な範囲:

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。(図 1)

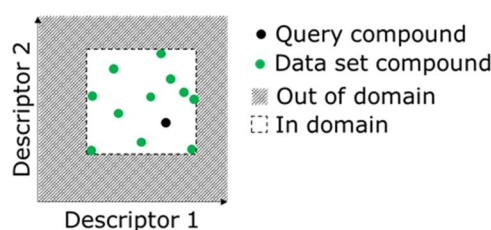


図 1. 適用可能範囲の定義。

Key Event データセットにおける記述子は、KNIME の RDKit Descriptor calculation ノードで化学構造から計算した。分子量、位相幾何学的(トポロジー)表面積、logP、原子の数、水素結合供与体の数、水素結合受容体の数、環の数など 117 の記述子がある。各 Key Event に対し、予測対象化合物の記述子の値が少なくとも 1 つの記述子変数の範囲を超える場合、モデルの適用可能範囲外と定義し、それ以外は範囲内と定義する。適用可能範囲外の予測対象化合物に関する予測は、信頼性に欠けると考えられたため、反復投与毒性データセットに対する性能数値の計算から除外した。

B-2 WhichCyp 予測の統合:

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。利用した KNIME の WhichCyp(バージョン 1.2)ノードは、基質がどのチトクロム P450 分子種に結合するかを予測する。バージョン 1.2 は、5 種の分子種(1A2、2C9、2C19、2D6 および 3A4)を検討する。こうした分子種それぞれへの結合に関する予測は、二値アウトカムとして得られる。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。この Key Event は、基本となる予測対象化合物がチトクロム P450 分子種と結合しない場合、生

体内で活性化されないので反応性代謝物をもたらさないという前提に基づいた「求電子種に代謝される」カテゴリに属する。ワークフローは、図 2 に示す。

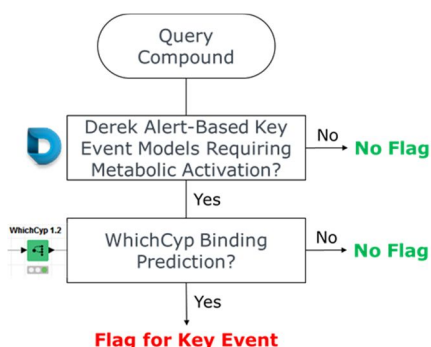


図 2. WhichCyp 予測統合のワークフロー

このルールを基に、Key Event をアクティブ化し代謝活性化を必要するあらゆる予測対象化合物、およびチトクロム P450 分子種に結合しないと予測されたあらゆる予測対象化合物は不活性 (No Flag) と、それ以外は活性 (Flag for Key Even) とのプロファイルを示した。

B-3 反応性の記述子としての部分的原子電荷

反復投与毒性試験データのデータセットの化合物のすべての部分的原子電荷を算出した。「直接的求電子性」カテゴリに属する Key Event でマッピングした DEREK NEXUS 知識ベースのアラートを特定し、次いで求電子反応に参与する原子位置の注釈を各パターンに付けた。予測対象化合物が「直接的求電子性」カテゴリに属するアラートとマッチする場合、求電子反応に参与している求電子性原子位置に対応した部分的原子電荷を抽出した。

最大値を予測対象化合物の反応性の定量値とみなした。次に、得られた真陽性および偽陽性の部分的原子電荷を比較し、陽性化合物と陰性化合物を識別する方法として適用した。

B-4 リードアクロス Key Event モデルの類似性カットオフの校正

Key Event モデルについてのリードアクロスは、様々なアッセイでの比較的陽性の可能性が高い化合物のデータを使用すること、「陽性」データのみを使用すること、および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。このカットオフこれまで 0.69 は経験に基づいて選択していた。そこで、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校正することにより、Key Event のリードアクロスモデルを改良した。

*: 各データセットは、「陽性」および「陰性」の注釈に関して層別になるように大きさの等しい 5 層に分割する。1 層目はバリデーションセットとし、残りの 4 層はリードアクロスモデルのトレーニングセットとして使用する。0~1 の範囲内で増分が 0.01 のカットオフ値に対し、バリデーションセットとして扱う層での所見を基に、受信者動作特性 (ROC) 曲線パラメーターとその曲線下面積 (AUC) を算出する。この計算処理は、バリデーションセットとして扱う残りの 4 層についても繰り返した。この方法により、5 種の ROC 曲線パラメーターが得られ、単一の ROC 曲線パラメーターセットとして平均化により統合した。ROC 曲線では、1 つのモデルに対して 2 つのタイプのエラーを表示する。AUC でモデルの正確度を測定し、その性能を推定する。両タイプのエラーを最小限に抑えることを目的として、平均化した ROC

曲線パラメーターから、最もバランスのとれた正確度に対応するカットオフ値を、各リードアクロスモデルに対する最良のカットオフとして選択する。

C. 研究結果

C-1 リードアクロスモデルの適用可能範囲。

適用可能範囲を Key Event プロファイラーに統合した結果、予測性能は変わらなかったが、反復投与毒性データセットに対する性能数値計算から out of domain となったのは、7 種の化合物のみであった。この 7 種の化合物のうち 6 種には、反復投与毒性データセットでは陽性と判定されていた。これらの化合物は、リードアクロス Key Event モデルに用いたプロファイラーの Key Event によってカバーされないメカニズムを介して肝毒性が誘発されることを示している。各 Key Event に対して適用可能範囲内および範囲外にある反復投与毒性データセットの化合物の数を、適用可能範囲によってカバーされない反復投与毒性試験データのデータセットから得られた化合物の割合とともに表 1 に示す。

Out of domain となった化合物は新規性を示しており、その新規化学空間は、リードアクロス Key Event モデルのカバレッジを向上させることを目的として調査する必要がある。これは、該当する Key Event のカバレッジ不足を反映する範囲外の割合が高いという事実によっても裏付けられる。例証化合物として「CYP 阻害物質 (RA)」や「RAR 結合物質 (RA)」などがある。

C-2 WhichCyp 予測の統合化

WhichCyp を Key Event プロファイラーに統合した結果、表 2 に示すように特異度が上昇し、感度が低下した。

図 3. は、Key Event プロファイラーへの WhichCyp 統合前および統合後において代謝活性化を必要とした Key Event に対する「真陽性」数および「偽陽性」数の内訳を示す。代謝活性化を必要とした Key Event 全体にわたり、「偽陽性」の減少幅は「真陽性」の減少幅よりも大きいという一般的傾向が見られる。そのため、Key Event モデルの陽性適中率が上昇した

「DNA 反応性求電子剤 (M)」および「タンパク質反応性求電子剤 (M)」の Key Event の陽性適中率は、それぞれ 46 から 56%、42 から 55% に上昇した。WhichCyp 予測が最も重要な CYP 分子種をカバーしているにも関わらず、他の分子種に結合するクエリー化合物が予測されないため、それらが実際に陽性である場合でも陰性とみなされる可能性がある。これは、相伴う「真陽性」の減少の説明となるかもしれない。

C-3 反応性の記述子としての部分的原子電荷

求電子性原子の部分電荷の調査では、図 4 に示すように、この記述子は、用いたアルゴリズム (Lhasa Limited 社または RDKit) を問わず、「直接的求電子性」カテゴリに属する Key Event の「真陽性」と「偽陽性」を区別できないことが示された。しかし、中央値を見た場合、「真陽性」の部分電荷は「偽陽性」の部分電荷よりも大きくなりやすい傾向があるように思われる。

Key Event 別ボックスプロットの内訳を見た場合、**エラー! 参照元が見つかりません。**はこの傾向が Lhasa Limited 社のアルゴリズムを用いた「DNA 反応性求電子剤」Key Event の方が強いことを示している。しかし、「DNA 反

応性求電子剤」Key Event のデータが不十分なため、信頼性のある確信的な結論を明確に述べる事ができない。反応性の代替となる有効な記述子を探す必要があると考えられる。

C-4 リードアクロス Key Event モデルの類似性カットオフ値の校正

各 Key Event データセットに関する陽性および陰性の実験データの集計結果を図 6 に示す。

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。これらに対し、類似性カットオフ法の校正を適用し、方法で述べたように ROC 曲線および AUC を算出した。AUC については、図 7 に要約する。AUC が 0.6 未満(図 7 中の赤い横線)のリードアクロス Key Event モデルは、校正に適合しているとみなさず、したがって経験に基づく 0.69 のカットオフは変更しなかった。これらのモデルは、Key Event プロファイラーの中にそのまま残した。

そのため、12 のリードアクロス Key Event モデルのカットオフ値を校正した。校正プロセスと結果を詳細に図示するため、3 つのリードアクロス Key Event モデルを選択した。図 8 はリードアクロスモデル BSEP 阻害物質、MMP 阻害物質および MRP2 阻害物質に関する結果を要約したものである。一番上のグラフは AUC であり、一番下のグラフはコスト関数である。コスト関数はバランスのとれた正確度がカットオフ(図では閾値)に応じてどのように変化するかを図示しており、バランスのとれた正確度が、下降する前にどのカットオフで最大値(赤い縦線)に達するのを示す。色付きのプロットは 5 つの個々のバリデーションセットであり、黒いプロットはそれらの平均を示す。

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、表 3 に要約する。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。これらの校正したカットオフ値は、Key Event プロファイラーに統合した。

D. 考察

上述した改善の統合後における反復投与毒性試験データの肝毒性プロファイラーデータセットの予測性能を表 4 に示す。

肝毒性プロファイラーにより予測した「偽陽性」の数が 68 減少した一方で、「偽陰性」の数は 45 増加した。正確度は変わらず、感度は低下し、特異度は上昇した。

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。この傾向を調査するため、毒性メカニズムが既知の ToxBank プロジェクトから得た一連の化学物質を Key Event プロファイラーで処理した。その結果、18 種中 15 種の化学物質を捉え、予測の正確度を確認するためにプロファイラーの結果を表示した。化合物名、標的、毒性、構造および毒性メカニズムは、ToxBank プロジェクトのウェブサイトからの表 5 に要約した。これらの化学物質は「SEURAT-1 liver gold reference compounds」と呼ばれ、毒性のメカニズムは公開文献でレビューされている。

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可能性があると考えられる。表 5 の縦の列「毒性メカニズム」における太字テキストは、プロファイラーがカバーする既知の毒性メカニズムである。このツールで、ユーザーは、適用可能範囲、生体内活性化、示されるアラートや、それらにマッピングした該当する Key Event、ならびにリードアクロスモデルの類似性係数と該当する構造に関してプロファイラーが提供するあらゆる予測と情報を見ることが可能となる。

可視化ツールのスクリーンショットを、図 9 に示す。「SEURAT-1 liver gold reference compounds」のプロファイラーの結果は、文献に記述されている毒性メカニズムと比較可能な表 5 に要約する。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。

参考文献

- Rostkowski, M., Spjuth, O. & Rydberg, P. WhichCyp: Prediction of cytochromes P450 inhibition. *Bioinformatics* 29, 2051–2052 (2013). doi: 10.1093/bioinformatics/btt325
- Mathea, M., Klingspohn, W. & Baumann, K. Chemoinformatic Classification Methods and their Applicability Domain. *Mol. Inform.* 35, 160–180 (2016). doi: 10.1002/minf.201501019
- RDKit: Open-Source Cheminformatics Software. RDKit Nodes for KNIME (trusted extension). Available at: <https://tech.knime.org/community/rdkit>. (Accessed: 25th January 2017)
- James, G., Witten, D., Hastie, T. & Tibshirani, R. in *An Introduction to Statistical Learning with Applications in R* 175–202 (Springer, 2015).
- Fawcett, T. An introduction to ROC analysis. *Pattern Recognit. Lett.* 27, 861–874 (2006). doi:10.1016/j.patrec.2005.10.010
- ToxBank. Available at: <http://www.toxbank.net/>. (Accessed: 25th January 2017)
- Jennings, P. et al. SEURAT-1 liver gold reference compounds: a mechanism-based review. *Arch. Toxicol.* (2014). doi:10.1007/s00204-014-1410-8
- ChemAxon. Instant JChem 14.8.11.0, 2014. Available at: <http://www.chemaxon.com>. (Accessed: 25th January 2017)

E. 結論

H28年度は、肝毒性につながる Key Event の統計学的なモデル化について、リードアクロス法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、各 MIE/KE データセット内の化学的記述子 (RDKit) の最小値と最大値で定義した。クエリー化合物は、その化学的記述子が、該当する MIE/KE データセットの化学的記述子の最小値と最大値の間に収まった場合に、MIE/KE 適用可能範囲の中で検討した。

「DNA 反応性求電子剤」または「タンパク反応性求電子剤」のようなエキスパートルールに基づいた Key Event を誘発する化学物質に関連した反応性記述子であると考えられたため、部分的電荷の記述子を調査したが、今回の検討では、部分電荷が「偽陽性」と「真陽性」を区別する有用な記述子でないことが示された。

一連の CYP 酵素への結合予測は、肝毒性プロファイラーにおいてエキスパートルールに基づいた Key Event に統合した。この Key Event は「求電子種に代謝される」カテゴリに属する。一連の CYP 酵素との結合予測は、Lhasa Limited 社により KNIME に統合された WhichCyp ウェブサービスを利用して得られた。

昨年度のプロジェクトと比べた適中率に関する周辺変化に促され、我々は肝臓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可能性があると考えられる。

F. 研究発表

論文発表

1. Hirata-Koizumi M, Ise R, Kato H, Matsuyama T, Nishimaki-Mogami T, Takahashi M, Ono A, Ema M, Hirose A. Transcriptome analyses demonstrate that Peroxisome Proliferator-Activated Receptor α (PPAR α) activity of an ultraviolet absorber, 2-(2'-hydroxy-3',5'-di-tert-butylphenyl)benzotriazole, as possible mechanism of their toxicity and the gender differences. *The Journal of Toxicological Sciences* 41:693-700 (2016)
2. Yamada, T., Hirose, A., Case study on the use of an integrated approach to testing and assessment for hepatotoxicity of allyl esters. Organisation for Economic Co-operation and Development, Series on Testing & Assessment No. 253, ENV/JM/MONO (2016)
3. 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)

学会発表

1. Yamada T, Hirata-Koizumi M, Ise R, Kato H, Matsuyama T, Nishimaki-Mogami T, Takahashi M, Kawamura T, Ema M, Hirose A, Ono A. Transcriptome analyses of an ultraviolet absorber, 2-(2-hydroxy-3,5-di-tert-butylphenyl)benzotriazole in rats. DIOXIN2016 (Florence, August, 2016)
2. A. Ono, J. Ciloy, M. Matsumoto, M. Takahashi, T. Kawamura and A. Hirose: 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, USA)
3. T. Yamada, M. Honma, and M. Hayashi: Recent advances in Quantitative Structure Activity Relationship (QSAR) and read-across for chemical safety assessment. ICCA-LRI and NIHS Workshop (2016.6, Awaji Island, Japan)
4. T. Yamada, M. Hayashi and A. Hirose: Development of read-across

for chemical safety assessment.

Asian Congress 2016 on Alternatives and Animal Use in the Life Science (2016.11, Karatsu, Japan)

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得: 該当なし
2. 実用新案登録: 該当なし
3. その他: 該当なし

表 1. Key Event の適用可能範囲内および範囲外にある反復投与毒性データセットの化合物数
(RA = リードアクロス)

Key Event	Out of domain	In domain	% out of domain
BSEP Inhibitor (RA)	321	1136	22.0
MRP2 Inhibitor (RA)	288	1169	19.8
MRP3 Inhibitor (RA)	407	1050	27.9
MRP4 Inhibitor (RA)	407	1050	27.9
CPT1 Inhibitor (RA)	1287	170	88.3
CPT2 Inhibitor (RA)	1357	100	93.1
MitoTox (RA)	579	878	39.7
MMP Inhibitor (RA)	233	1224	16.0
NADH Depletor (RA)	1382	75	94.9
MTTP Binder (RA)	1452	5	99.7
CYP Inhibitor (RA)	1457	0	100
GSH Adduct Former (RA)	497	960	34.1
PPARalpha Binder (RA)	230	1227	15.8
PPARdelta Binder (RA)	376	1081	25.8
PPARgamma Binder (RA)	420	1037	28.8
FXR Binder (RA)	230	1227	15.8
PXR Binder (RA)	254	1203	17.4
P450 Inhibitor (MDI assay) (RA)	747	710	51.3
ROS Intensity Modifier (RA)	604	853	41.5
Lipid Intensity Modifier (RA)	604	853	41.5
CytoTox Causing (RA)	1352	105	92.8
CAR Binder (RA)	1444	13	99.1
ER Binder (RA)	612	845	42.0
LXR Binder (RA)	1189	268	81.6
AHR Binder (RA)	1334	123	91.6
GR Binder (RA)	1129	328	77.5
RAR Binder (RA)	1452	5	99.7
RXR Binder (RA)	1432	25	98.3
Tubulin Binder (RA)	1211	246	83.1
Topoisomerase Inhibitor (RA)	1116	341	76.6

表 2 WhichCyp 統合化による Key Event プロファイラーの性能指標。

PPV = 陽性適中率、NPV = 陰性適中率。

	Bal Accuracy	Sensitivity	Specificity	PPV	NPV
Profiler	0.507	0.564	0.450	0.378	0.634
Profiler + WhichCyp	0.517	0.490	0.544	0.389	0.642

表 3 較正したリードアクロス Key Event モデルのカットオフ値。

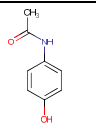
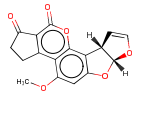
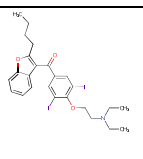
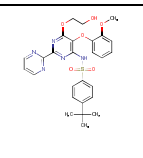
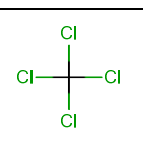
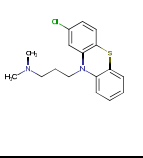
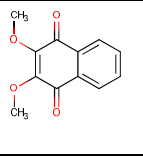
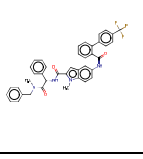
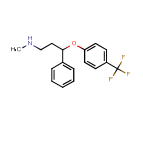
Key Event	Cut-off
BSEP Inhibitor	0.61
CytoTox Causing	0.58
FXR Binder	0.64
MMP Inhibitor	0.68
MRP2 Inhibitor	0.85
MRP3 Inhibitor	0.77
MRP4 Inhibitor	0.59
MitoTox	0.75
PPARalpha Binder	0.45
PPARdelta Binder	0.67
PPARgamma Binder	0.54
PXR Binder	0.58

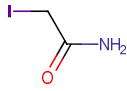
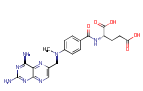
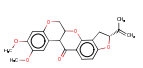
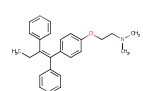
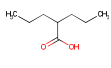
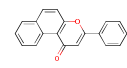
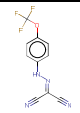
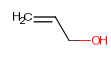
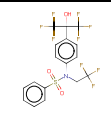
表 4. 反復毒性データセットに対する Key Event プロファイラーの予測性能。

TP = 真陽性、FP = 偽陽性、TN = 真陰性、FN = 偽陰性。

Profiler (Year)	Bal Accuracy	Sensitivity	Specificity	TP	FP	TN	FN
Profiler (H27 年度)	0.51	0.57	0.44	310	511	402	234
Profiler (H28 年度)	0.50	0.49	0.52	265	443	470	279

表 5. ToxBank 及びプロファイラー結果から得られた毒性メカニズムが既知の化学物質 (M)は、生体内活性化が必要とされる;(*) DX 知識ベースにおいて肝毒性アラートを示すクエリー化合物

Name	Target	Toxicities	Structure	Toxicity mechanism(s)
Acetaminophen*	COX-2c	Cytotoxicity		Protein reactive (M) Depletion of GSH Mitochondrial Membrane potential
Aflatoxin B1*	possibly DNA binding	Apoptosis		DNA reactive (M) Protein reactive (M) Depletion of GSH Formation of ROS (lipid peroxidation, oxidative DNA damage)
Amiodarone*	beta blocker K channel blocker	Cytotoxicity Phospholipidosis Steatosis		Inhibition of electron transport Inhibition of fatty acids oxidation
Bosentan	endothelin receptor antagonist	Cholestasis		BSEP inhibition
CCl4 (tetrachloromethane)*	MOA standard for free radical generation	Cytotoxicity Steatosis		Protein reactivity (M) Lipid Oxidation (M) Covalent modification of MTP lipid transporter (followed by transporter proteolysis) Hypermethylation of RNA - leading to disruption of protein synthesis
Chlorpromazine	dopamine, serotonin, adrenergic, histamine receptors	Cholestasis Cytotoxicity		Protein reactive (M) Promiscuous protein inhibitor Decrease in mitochondrial membrane potential GSH depletion BSEP inhibition
Dimethoxynaphthoquinone (DMNQ)	MOA standard for redox cycling	Cytotoxicity		Redox cycling (leading to oxidative stress)
Dirlozapide	MTTP inhibitor	Steatosis		MTTP (Microsomal Triglyceride Transfer Protein) inhibitor - leading to triglycerides accumulation
Fluoxetine	Selective serotonin reuptake inhibitor (SSRI), NMDA receptors containing the GluN2B	Phospholipidosis		cationic amphiphilic drug (CAD) - accumulate in lysosomes leading to phospholipidosis

Name	Target	Toxicities	Structure	Toxicity mechanism(s)
Iodoacetamide	MOA standard for thiol alkylation	Cytotoxicity		Protein alkylation GSH alkylation Glyceraldehyde phosphate dehydrogenase inactivation
Methotrexate	Dihydrofolate reductase (DHFR) inhibition	Fibrosis		Inhibition (MXT polyglutamate) of dihydrofolate reductase, thymidylate synthase and AICAR (5-aminoimidazole-4-carboxamide ribonucleotide) transformylase MTX indirectly inhibit MTHFR (methylene tetrahydrofolate reductase)
Rotenone	complex I/ubiquinone	Cytotoxicity		Inhibitor of complex I of mitochondrial respiratory chain - as result in increase of production of H ₂ O ₂ , superoxide, oxygen radical species (mitochondria dysfunction, DNA fragmentation and lipid peroxidation)
Tamoxifen*	estrogen receptor	Cholestasis Steatosis		Increased synthesis of triglycerides Phospholipidosis Mitochondrial dysfunction (uncoupling agent, inhibitor of electron transport chain)
Valproic Acid*	GABA transaminase	Cytotoxicity		Competitive inhibitor of fatty acid metabolism Promiscuous activity - disruption of membrane integrity Carnitine depletion (leading to inhibition of fatty acid transport) Metabolism to Michael acceptor Free radical propagating activity
β-Naphthoflavone		Modulation of lipid metabolism with increased cholesterol metabolism and steatosis.		AHR (aryl hydrocarbon receptor) agonist
FCCP		Cytotoxicity		Decrease mitochondrial membrane potential (due to protonophoric properties) Uncoupler of respiration from ATP synthesis
Allyl alcohol*		Cytotoxicity Fibrosis		Protein reactive (M) Oxidative stress, reduction of Mitochondrial Membrane potential
TO901317		Steatosis via induction of fatty acid synthesis		Agonist for LXR-α and LXR-β nuclear hormone receptors

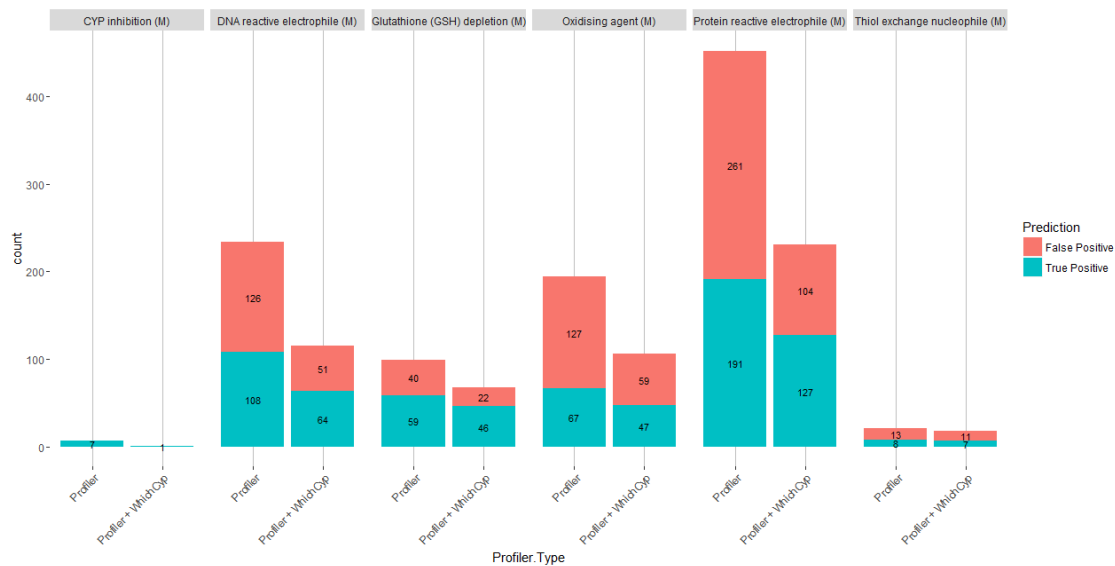


図 3. 反復投与毒性試験データセットに対する各 Key Event 性能

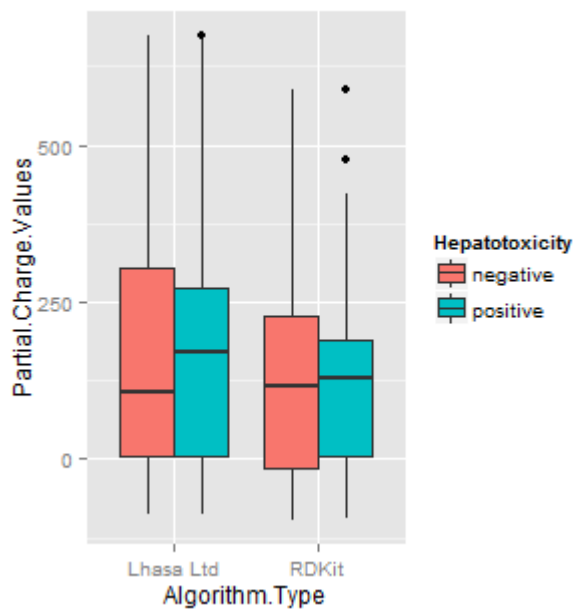


図 4. 「真陽性」および「偽陽性」に対する求電子性原子の部分電荷のボックスプロット

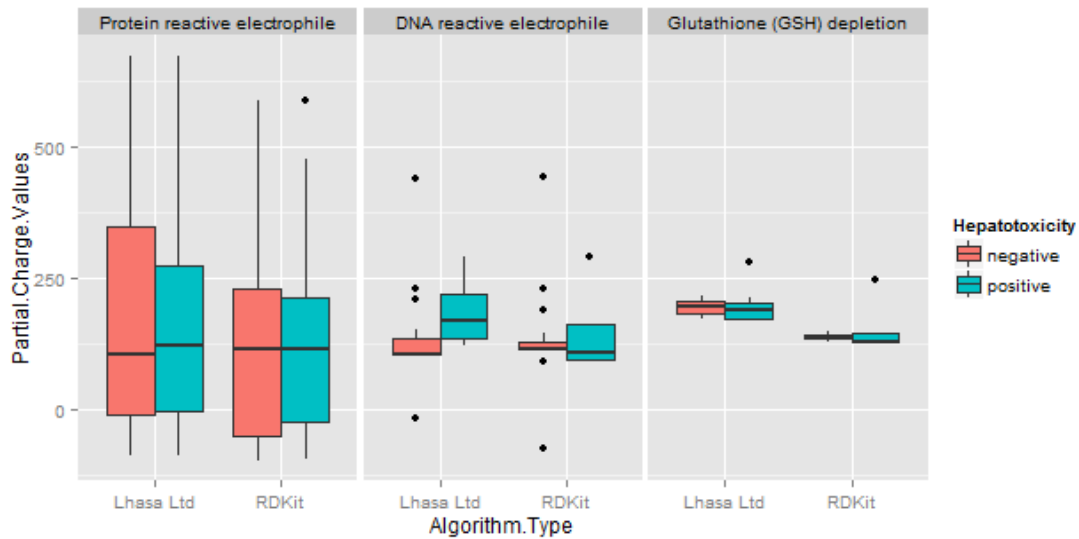


図 5. 「真陽性」および「偽陽性」に関する求電子性原子の部分電荷の Key Event 別ボックスプロット

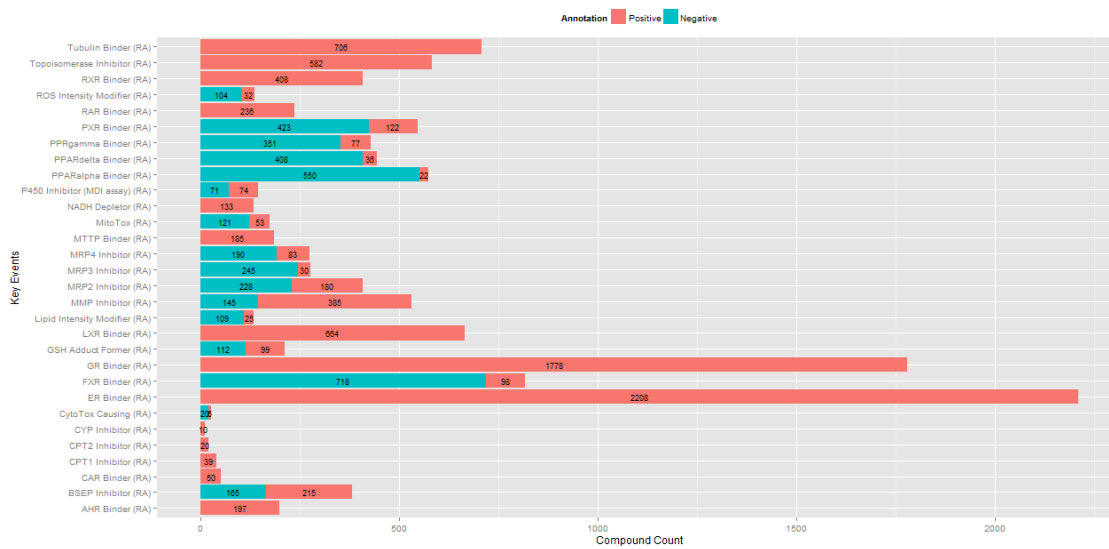


図 6. 各 Key Event データセットに関する陽性および陰性の実験データの集計結果

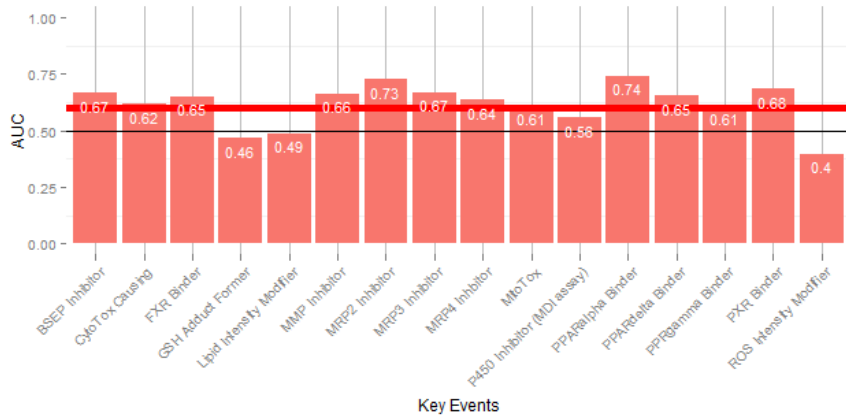


図 7. リードアクロス Key Event モデルの曲線下面積(AUC)

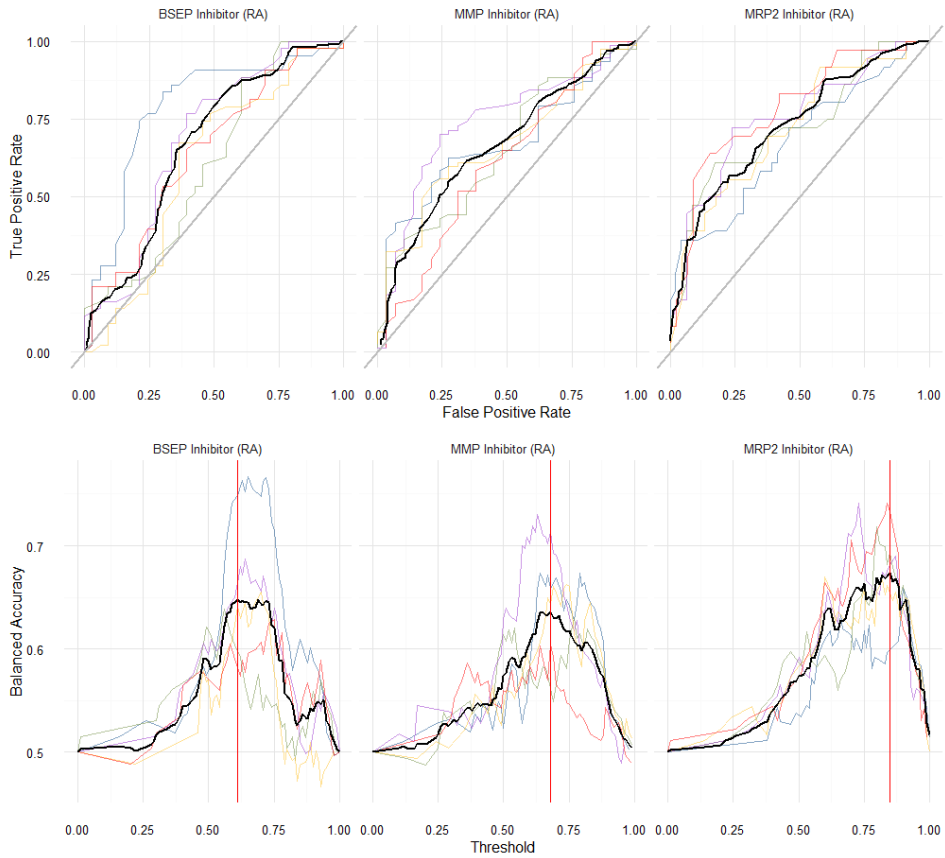
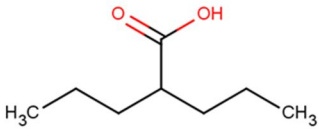





図 8. リードアクロスモデル BSEP 阻害物質、MMP 阻害物質および MRP2 阻害物質 (縦の列)の ROC 曲線(一番上のグラフ)とコスト関数(一番下のグラフ)
色付きの線 = 個々のバリデーション、黒い線 = 平均

CHEMICAL_NAME: Valproic Acid
 CHEMICAL_ID: 99-66-1
 Mol Weight: 144.21

Structure



READ ACROSS MODEL

ENDPOINT_NAME	ENDPOINT_PREDICTION	ENDPOINT_APPDOM	Structure	SIMILARITY_COEFF
MRP4 Inhibitor (RA)	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		0.64
PPARAlpha Binder (RA)	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		1.00
PI3K Binder (RA)	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		1.00

MAPPING TO DEREK NEXUS

ENDPOINT_NAME	ENDPOINT_PREDICTION	BIOACTIVATION	ALERT_ID	ALERT_NAME
1 Glutathione (GSH) depletion (M)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	546	Short chain fatty acid
2 Protein reactive electrophile (M)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	546	Short chain fatty acid
3 Acetyl CoA depletion	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	546	Short chain fatty acid
4 Carnitine depletion	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	546	Short chain fatty acid
5 P-Oxidation competitive substrate	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	546	Short chain fatty acid
6 Mitochondrial dysfunction	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	RapidPrototype 105	Short chain fatty acid

DESCRIPTION

This alert describes the mitochondrial dysfunction caused by short chain fatty acids. This is a rapid prototype alert generated using a proprietary data set of 362 compounds and two published data sets of 105 (Mehta et al) (data set A) and 283 compounds (Zhang et al) (data set B) respectively. Compounds were classified on the basis of their uncoupling/inhibitory activity on oxidative phosphorylation (proprietary data) and their effects on mitochondria in the published literature (published data sets A and B). 1) Proprietary data set: 6 compounds activate this rapid prototype alert of which 1 is reported positive 2) Published data set A: 6 compounds activate this rapid prototype alert of which 6 are reported positive 3) Published data set B: 105 compounds activate this rapid prototype alert of which 8 are reported positive

リードアクロス key event モデルの一覧

KEs (ENDPOINT_NAME)
 Automatic prediction of the profiler (ENDPOINT_PREDICTION)
 Applicability domain definition (ENDPOINT_APPDOM)
 Supporting example (Structure)
 Similarity coefficient of the supporting example (SIMILARITY_COEFF)

Description of the alert

List of the alerts fired including:

- KEs (ENDPOINT_NAME)
- Automatic prediction of the profiler (ENDPOINT_PREDICTION)
- WhichCyp prediction if appropriate (BIOACTIVATION)
- ID of the alert in DX (ALERT_ID)
- Name of the alert (ALERT_NAME)

図 9 フルオキシセチンのプロファイルの表示例