別添１

厚生労働行政推進調査事業費補助金研究報告書

化学物質リスク研究事業

In silico 予測手法の高度化と New Approach Methodology の活用に基づく化学物質の統合的ヒト健康リスク評価系の基盤構築に関する研究

（21KD2005）

令和３年度～令和５年度　総合研究報告書

研究代表者 山田 隆志

令和６ 年（2024 年）５ 月

別添２

目 次

I.　総合研究報告
In silico 予測手法の高度化と New Approach Methodology の活用に基づく化学物質の統合的ヒト健康リスク評価系の基盤構築に関する研究……………………………………1
古濱　彩子、杉山　圭一、本間　正充、山田　隆志、広瀬　明彦、松本　真理子、安部　賀央里

II.　研究成果の刊行に関する一覧表……………………………………………………32

令和 **5** 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）
（**21KD2005**）　総合研究報告書

In silico **予測手法の高度化と New Approach Methodology の活用に基づく化学物質の統合的ヒト健康リスク評価系の基盤構築に関する研究**

研究代表者　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

研究要旨

化学物質リスク評価の迅速化と 3Rs への対応のため、本研究では規制安全性評価に関連するエンドポイントを対象に、QSAR の高度化と、国際的に必要性が強く認識されている New Approach Methodology (NAM)の活用に基づく統合的評価系の基盤整備を遂行した。

Ames/QSAR の深化では、安衛法試験結果のデータベース精密化を完了させ考察した。N-ニトロソアミン 18 化合物の Ames 実試験で得られた結果の整理と考察を進め、Ames/QSAR 評価に資する知見の蓄積を行った。更に、令和 2 年より始動した第 2 回 Ames/QSAR 国際チャレンジプロジェクトを完成させ成果を論文化し、Ames/QSAR の社会実装に有益となる情報の公開を果たした。最終令和 5 年度には深層学習ベースのモデルの Ames 変異原性予測への応用可能性も検討した。

代謝予測に基づく反復投与毒性リードアクロスモデルの高度化については、既存の代謝予測モデルと評価対象物質の類似物質の既存の代謝データを活用して、これまで難しいとされてきた代謝予測の信頼性を評価する方法を提案した。複数の事例研究では、代謝の類似性に基づくカテゴリー化によって毒性発現を予測する方法の妥当性を検証した。さらに低毒性を予測する方法を検討した。ADME 情報を関連付けて低毒性に対する考察を行い、化学構造、トキシコキネティクス、毒性学的性質が類似する物質群をカテゴリー化する事例研究を実施した。同アプローチを他の物質へ適用することは十分可能であり、規制安全性評価への実装へ向けて有用であることを示した。また、毒性試験結果のヒトへの外挿において重要なヒト代謝情報を提供するため、ヒト CYP3A4 を対象に予測精度の高い基質テンプレートモデルのプロトコールを詳細化した。

生殖発生毒性予測系構築では、ヒストン脱アセチル化酵素阻害から催奇形性へ至る AOP を用いたリスク評価への適用事例において、AOP 中の各キーイベントに関連する試験法の結果による AOP の堅牢性の検証、追加の試験、類似化合物の機序予測など総合的な試験評価戦略の開発に役立つことが明らかとなった。また、ECHA REACH のデータセットを整備して解析した結果、既存 AOP ネットワークの改良が可能であることが示され、可能性の高い AOP としてミトコンドリア毒性による生殖毒性の AOP の作成を試みた。さらにデータセットに含まれる精巣毒性についても AOP ネットワークによるスクリーニングを行うことでさらなる AOP の可能性を見いだした。

In vitro‐*in vivo* 外挿（IVIVE）用の生理学的動力学（PBK）モデル構築のための基盤整備では、エストロゲン受容体 (ER) アゴニスト等を対象にした *in vitro* アッセイの IVIVE で使用されている生理学的動態（PBK）モデルの既存研究を調査、解析し、IVIVE を試行し、

例数が少ないながら、OED から推測される子宮肥大試験の判定結果は子宮肥大試験のアゴニスト活性を予測できる可能性があることを確認した。

機械学習による皮膚感作性の予測モデル構築については、感作性強度を予測する回帰モデルを構築し、OECD (Q)SAR Assessment Framework (QAF)に基づいたモデル評価項目について検討した。また、皮膚感作性のキーイベントである *in vitro* 実験結果を *in silico* で予測する高性能なモデルを構築し、Defined Approach への適用可能性が期待できる。化学物質の構造情報のみからヒトでの皮膚感作性の有無を判別する高性能なモデルも構築できた。

本研究の成果は、*in silico/in vitro* NAM のデータをリスク評価に統合させるための科学的に堅牢な方法の確立に資するものである。そして、国際動向を踏まえた化学物質の統合的ヒト健康リスク評価系構築の基盤となるものである。

研究分担者

古濱　彩子
国立医薬品食品衛生研究所
安全性生物試験研究センター
変異遺伝部　主任研究官

杉山　圭一
国立医薬品食品衛生研究所
安全性生物試験研究センター
変異遺伝部　部長

本間　正充
国立医薬品食品衛生研究所　所長

広瀬　明彦
一般財団法人化学物質評価研究機構
安全性評価技術研究所　技術顧問

松本　真理子
国立医薬品食品衛生研究所
安全性生物試験研究センター
安全性予測評価部　主任研究官

安部　賀央里
名古屋市立大学　大学院薬学研究科
レギュラトリーサイエンス分野　講師

A．研究目的

現在、数多くの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。化学物質の規制に関わる国際機関や諸外国の規制当局は、リスク評価の迅速化・効率化のために、*in silico*予測手法の利用促進を図っているが、ヒト健康リスク評価における利用は限定的である。定量的構造活性相関（QSAR）は、ICH M7ガイドラインに基づいた医薬品不純物の遺伝毒性評価において利用されるようになったが、化学物質の規制上での使用を拡大させるためには、高品質のデータセットの使用、モデルの予測精度の更なる向上、予測結果の信頼性を評価する方法等、本アプローチの高度化が求められている。

また、動物福祉は国際的に大きな流れとなっており、段階的な動物試験の削減は不可避の情勢となっている。New Approach Methodology (NAM) は、有害性評価の文脈において、toxicokineticsやtoxicodynamicsを包含する動物を用いない*in silico*, *in vitro*等のアプローチを意味し、それらを統合して利用することにより、ヒト健康リスク評価の信頼性を向上させると期待されている。諸外国の規制当局は、新しい動物試験要求を最小限に抑え、NAMの活用を促進するビジョンやロードマップを近年相次いで公表している。一方で、NAMデータを活用した有害性評価の行政的受け入れは未だ限られており、ケーススタディによって、その信頼性や規制上のニーズを満たすことに貢献できるかを概念実証することが求められる。さらに、その受け入れを促進するために、NAMの知識をリスク評価の関係者が共有することが必要である。

そこで本研究では、Ames変異原性を対象としたQSARの高度化と、in vivo毒性を対象としたNAMの活用に基づく化学物質の統合的ヒト健康リスク評価系の基盤整備を行う。

Ames変異原性予測(Ames/QSAR)については、安衛法試験結果のデータセットを整備し、そのデータを世界中のQSAR開発者に提供することにより、QSARモデルの改良を目指す国際共同研究プロジェクト（第2回Ames/QSAR国際チャレンジプロジェクト、第2回プロジェクト）を先導し、QSAR予測精度の向上に貢献を果たす。更に、N-ニトロソアミンを中心とした新規データの追加により高信頼性のデータセットを開発しその考

察を進めると共に、QSAR予測の向上に資する改良を推進し、情報共有する。今後の展開を見据えAmes/QSARモデルによる検証に加えて、深層学習ベースのモデルとして、Transformerモデルの開発と応用可能性の検討も行う。以上、Ames/QSARの結果を行政における判断基準として積極的に活用する統合的な遺伝毒性評価系開発の基盤を構築する。

反復投与毒性、生殖発生毒性については、リードアクロスの適用範囲の拡大を目指して、大規模毒性データベースの構築、カテゴリーの構築、有害性発現経路（AOP）の開発を行ってきた。そこで本研究では、機序に基づくリードアクロスの信頼性の向上へ向けて、NAMデータを活用した統合的アプローチの優位性を検証する。反復投与毒性では、化学物質の既知の代謝情報を収集し、種々の代謝予測モデルと類似物質の既知代謝情報を組み合わせて代謝予測の不確実性を減少させ、代謝の類似性に基づくカテゴリーの精緻化とリードアクロス予測の信頼性向上を図る。継続してその適用範囲拡大を図るとともに、実験動物で観察された主要な毒性のヒトへの外挿性向上を考慮したヒト代謝予測モデルの化学物質に対するパフォーマンスを評価する。

生殖発生毒性では、毒性エンドポイントに関連するキーイベントに基づいたAOPを、リードアクロスに適用する際のケーススタディを検証する（令和3年度）。さらなる毒性データ収集と新規AOPを開発して、その利点や課題を抽出してAOPの適用拡大を目指すための基礎的な知見を得ることを目的とする（令和4、5年度）。

欧米において、化学物質の生理学的動態（PBK）モデルを用いて、*in vitro*アッセイの活性濃度を*in vivo*経口等価用量（OED）に変換する*in vitro*-*in vivo*外挿（IVIVE）が活発に行われている。しかし、PBKモデルに必要なパラメータの既報値は限られており、IVIVEの実用性を向上させるためには、*in vitro*試験や*in silico*法により得られるモデルパラメータを使用することが有効と考えられる。そこで、エストロゲン受容体 (ER) アゴニスト等を対象にした*in vitro*アッセイのIVIVEで使用されているPBKモデルについて調査を行い、それらのモデルを再現し、精度等を評価する。この評価結果を基に、*in vitro*手法および*in silico*手法により決定したパラメータを用い、IVIVEに適用可能な汎用的なPBKモデルを構築する。また、PBKモデルに必要かつ重要な吸収と消失に係るパラメータ値を得るため、*in vitro*試験を実施し、得られたパラメータ値等を基にIVIVEによりOEDを算出し、*in vivo*試験で報告されている影響量との比較を試行する。さらに、試行結果に基づき、ヒト健康リスク評価等への適用可能性について検討する。

機械学習などの人工知能（AI）アプローチは、リスク評価の様々なステップで、急速に増加する多様で関連性のあるデータの有効活用をサポートする大きな可能性を有している。皮膚感作性を対象に、機械学習を活用して予測モデルを構築し、予測精度や適用範囲、結果の説明性等を評価する。さらに、将来の他の毒性エンドポイントへの適用を視野に入れ、皮膚感作性のケーススタディを行い、規制安全性評価への受け入れへ向けた課題整理を行う。

B. 研究方法

B.1. 遺伝毒性評価に資するAmes/QSARの深化（杉山・古濱・本間）

令和3年度は、QSARによるAmes予測精度向上に必須となる高信頼性のデータセットを開発するため、1-i) 試験結果の再評価を行った。対象は12,140物質の安衛法Ames試験結果とした。精査に用いる結果報告書が入手可能な物質数は10,694であった。令和3年3月末現在、A判定（Ames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）およびB判定（Ames試験における比活性値が1,000 rev/mg未満の陽性判定

物質）は全て評価を終えており、C判定（Ames試験における陰性判定物質）の評価途中であった。再評価未実施のC判定の2,980物質に対し精査を行った。更に、1-ii) 芳香族N-ニトロソアミン6化合物のAmes試験を実施した。

令和4年度は、2-i) 再評価を行ったAmes試験結果の陽性条件の菌株・代謝活性化条件を整理し、2-ii) A芳香族N-ニトロソアミン9化合物のAmes試験を実施し、2-iii)令和2年に始動した第2回Ames/QSAR国際チャレンジプロジェクト参加21チームの結果の取りまとめを行った。第2回プロジェクトについては、参加各チームは複数のモデルによる予測結果を提出可としたうえで、結果を知る前に各チーム内でのBest modelを１つ選択するように依頼していた。参加チームのそれぞれBest modelと全ての約50モデルの2パターンで統計量の評価を実施した。

令和5年度は、3-i) N-ニトロソアミンについて、3化合物のAmes試験を実施した。Ames試験は、OECD TG471に準拠して、5菌株（TA98, TA100, TA1535, TA1537, WP2uvrA）、代謝活性化条件と非活性化条件による試験を実施した。プレインキュベーションを37℃で20分実施し、代謝活性化条件では、10% Rat S9を使用した。3-ii) 第2回プロジェクトについては、考察と総括を行った。3-iii)自然言語処理分野で使用されている深層学習モデルであるTransformerモデルのAmes変異原性予測への応用可能性の検証を東京大学への委託研究で行った。

B.2. 代謝予測に基づく反復投与毒性リードアクロスモデルの高度化に関する研究（山田）

本研究で使用する代謝予測モデルを選定するため、令和3年度は既存のモデルについて、名称、製作者、出力結果、アルゴリズム、対象とする生物種や酵素（分子種）、データセットの公開/非公開、有償/無償、モデルの使用実績および更新の有無などの情報を整理した。

代謝の類似性に基づくカテゴリー化とリードアクロスの信頼性向上を図ることを目的として、令和3-4年度にクロロニトロベンゼン類とハロアルカン類を対象に、既存の代謝情報や選定した3つの代謝予測モデルによる出力結果など、複数の情報を統合して、毒性発現につながる代謝物の予測の信頼性を評価した。評価対象物質に対する類似物質の化学構造と毒性情報を、NIHS反復投与毒性統合DB（国衛研、食品安全委員会、ToxRef、RepDoseの反復投与毒性試験データを一元化したデータベース）から収集し、代謝と毒性機序の類似性に基づきグループ化し、標的臓器とNOAEL値をリードアクロスにより予測した。

さらに、令和5年度は、反復投与毒性試験で病理所見が認められず、高いNOAEL値により化学物質審査規制法（化審法）のスクリーニング評価で有害性クラス“外”または“４”に分類される物質をNIHS反復投与毒性統合DBから抽出し、それらを“低毒性物質”としてその化学構造、物性および代謝類似性の観点からグループ化してカテゴリーを構築し、低毒性に対する考察を行った。

令和4-5年度に動物試験結果のヒトへの外挿性向上に資するNAMデータの利用を、代謝の観点から検討するため、ヒトCYP分子種を対象に、代謝予測モデルの利用可能性を調査した。

B.3. AOP に基づく生殖発生毒性の予測系構築に関する研究（広瀬）

令和3年度は、先行的に開発したAOPである発達毒性に関連するヒストン脱アセチル化酵素（HDAC）阻害を例として、リスク評価の3つの場面に適用するための事例研究（Case 1：特定の化合物の評価に妥当性レビュー、Case 2：機序仮説を裏付ける試験系の優先順位付け、Case 3：新規物質などの類似化合物のレビューデータの活用）を実施した。令和4年度は、ECHA のREACHに登録されているデータセットを用いて、DART

リスクとDARTの原因となる潜在的メカニズムの探索を行った。ECHA REACHに提出されたDART関連のOECDガイドラインに従って実施された試験（2278件）の研究結果から、既存のAOPに対するデータギャップ検証のため、DART AOPネットワークに対して類似検索方法を行うとともに Derek Nexusの性能も検証した。さらに、in silicoモデルがAOP確立に向けてうまく機能しない毒性メカニズム領域を特定するために、DARTと関連するDerekアラートの探索を行った。令和5年度は、昨年度の調査で新たなAOPの有力候補のひとつとなったミトコンドリア毒性についてAOPの可能性調査を行うと共に、生殖発生毒性試験データの精巣毒性研究の化合物情報についてAOPネットワークによるスクリーニングを実施した。

B.4. IVIVE用のPBKモデル構築のための基盤整備（松本）

令和3年度は、欧米における*in vitro*アッセイ等のIVIVEに関する既存研究を調査し、使用PBKモデルを解析し、予測精度等を確認するとともに、モデルに必要なパラメータの推定ツールやオンラインデータベースについても調査した。さらに、再現したPBKモデルとオンラインデータベースや推定ツールから得たパラメータ値で8物質のIVIVEを試行した。

令和4年度は、令和3年度と4年度に行った調査の結果を基に、IVIVEのケーススタディに適用するための汎用的なマウスPBKモデルを構築した。構築したモデルで血中濃度の時間変化を計算し、既報のマウスでの濃度変化と比較することによりモデルを検証した。並行して、吸収と消失に係るPBKモデルパラメータ値を得るためヒト結腸癌由来細胞（Caco-2細胞）を用いた細胞膜透過性試験と肝臓S9画分を用いた*in vitro*代謝安定性試験を行い、試験の妥当性を評価した。さらに、構築したマウスPBKモデルで、4-alpha-CumylphenolのERアゴニスト活性に関する*in vitro*アッセイの活性濃度のOEDへの外挿を試行した。得られたOEDをマウスの子宮肥大試験結果と比較し、*in vitro*アッセイデータのIVIVEの妥当性を評価した。

令和5年度は、マウスPBKモデルの汎用性向上のために、ラットとヒトにも適用可能なモデルを構築した。また、Caco-2細胞を用いた細胞膜透過性試験およびS9画分を用いた*in vitro*代謝安定性試験も引き続き実施し、令和4年度に検討できなかった物質についてCaco-2膜透過係数（Papp）とS9蛋白質ベースの*in vitro*クリアランスの値を得た。さらに、4-alpha-Cumylphenol（4-CP）、4-Hydroxybiphenyl（4-HB）、2-Cyano-3,3'-diphenylacrylic acid ethyl ester（CE2）、1,1,1-tris(4-hydroxyphenyl)-ethane（THE）の4物質について、*in vitro*代謝安定性試験や既報値、*in silico*法で得たパラメータ値を用いてマウスPBKモデルで、血漿蛋白質非結合態のピーク濃度に基づく*in vitro*活性濃度のOEDへの換算係数を算出した。ERアゴニスト経路に関連する14の*in vitro*アッセイのACC（有意な影響が見られる最小濃度）およびAC_{50}（50％影響濃度）値をマウスのOEDに外挿し、可能な場合はマウスの子宮肥大試験結果と比較し、内分泌かく乱影響評価へのIVIVEの適用性を評価した。

B.5. 機械学習を用いた皮膚感作性試験代替法の開発と化学物質のリスク評価への活用に関する研究（安部）

皮膚感作性の*in silico*予測モデルの精緻化として、強感作性物質の予測を重視した回帰モデルを構築した。Defined ApproachのOECDガイドライン（No.497）において検討された化学物質の試験情報を使用した。皮膚感作性の強度指標であるLLNAのEC3値を目的変数とし、皮膚感作性のAOPに関する*in vitro*試験結果（DPRA、KeratinoSens^{TM}、h-CLAT）、物性値、OECD QSAR

ToolBoxから得られる化学情報を説明変数とし、勾配ブースティング決定木系アルゴリズムを用いた回帰モデルを構築した。本モデルを用いて、2023年に公表されたOECDのQSAR Assessment Frameworkに関するガイダンスを基に、(Q)SARモデル評価項目について検討した。

皮膚感作性AOPにおいて、分子開始イベントMIE（タンパク質との共有結合）を評価する比較的簡便な*in chemico*試験であるDPRA（OECD TG442C）と化学構造情報のみから、Key Event2（角化細胞における炎症性応答）を評価するKeratinoSens^{TM}（OECD TG442D）の実験結果を予測する*in silico*モデルを構築した。本モデルは、既存の文献情報を学習データとし、勾配ブースティング決定木系のXGBoostを使用してKeratinoSens^{TM}の陽性、陰性を判定する分類モデルであり、外部検証も実施した。さらに、Defined Aproachの2 out of 3 DA (No.497)において、KeratinoSens^{TM}の予測値を使用した場合の組み合わせ評価を実施した。

また、ヒトの皮膚感作性評価を*in silico*で予測する機械学習モデルを構築した。*In silico*モデルにおいて重要なデータ分割、性能評価、変数重要度、適用領域について検討した。

C. 研究結果

C.1. 遺伝毒性評価に資するAmes/QSARの深化（杉山・古濱・本間）

・安衛法試験結果の再評価（1-i) および2-i)）

複数名の遺伝毒性専門家によるAmes試験データの精査を実施した最終的な専門家判断では、A判定649、B判定1150、C判定10335、合計12134物質（評価不能6）の分類となった。A判定26、B判定18、C判定66に対し、評価の変更が行われた。

なお、10,673物質について安衛試験報告書に基づく精査が可能であったが、これらの報告書では、サルモネラ菌TA100、TA98、TA1535株でのそれぞれ代謝活性化・非活性化条件での試験結果の確認が可能であった。TA100株で68%、TA100とTA98株の両方・いずれで82%、TA100、TA98、TA1535株の組合せで91%の陽性を検出することが可能であった。また、陽性結果のうち61％は代謝活性化並びに非活性化条件の両方で陽性であり、27%、12%がそれぞれ代謝活性化条件のみ・代謝非活性化条件下のみで陽性の結果であった。なお、代謝非活性化条件では、TA100株だけで48％、TA100とTA98株の両方もしくはいずれで57％の陽性が検出可能であった。換言すると非活性化条件のTA100株の試験を実施することだけで陽性の半数弱を検出することが可能な結果が導かれた。

・*N*ニトロソアミンに注目したAmes試験の実施(1-ii)、2-ii)および3-i))

令和3年度に実施した6化合物のAmes試験では、5化合物で陽性の結果が得られた。4化合物は既存のハンセンデータベースの結果と不一致であった。令和4年度に実施した9化合物のAmes試験では、4化合物で陰性であり、残りは陽性であった。これら9物質のうち、ハンセンデータベースでは、１物質が陰性、1物質が陽性の報告であり、実試験結果と一致した。令和5年度には、3化合物*N*-Nitrosofenfluramine, *N*-Nitrosodimethylamine (NDMA), *N*-Nitrosodiethylamine (NDEA)のAmes試験を実施した。NDMAのみ水とDMSOの両方に溶解したため、溶媒の種類の相違による検証を行った。*N*-Nitrosofenfluramine とNDEAは陽性、NDMAは水、DMSO溶媒共に陰性であった。なお、NDMAとNDEAについては最近実施されたOECD TG471に準拠した試験結果報告（F. Bringezu and S. Simon, *Toxicol. Rep.* **9** (2022), 250）との比較も行った。我々の試験との相違点は、プレインキュベーション時間が37℃、60分と3倍長いこと等が挙げられる。Bringezuらの結果では、NDMA、NDEAともに陽性であり、我々のAmes試験結果と異なる部分がみられた。

・第2回Ames/QSAR国際チャレンジプロジェクト

(2-iii)および3-ii))

第2回プロジェクト参加21チームの予測結果は、全般的に、第2回プロジェクトの結果は特異度（陰性物質を陰性と判定できる能力）が高いが、感度（陽性物質を陽性と判定できる能力）が低い傾向があった。第2回プロジェクトは前回第1回プロジェクトよりも参加チーム間でのモデルの感度、MCC（総合的な指標）、F1 Score（真陰性を考慮に入れていない精度）の差が顕著であった。陰性と陽性の試験データの比率が85：15と偏りがあることが、感度が低い要因の一つではあるが、全モデルの平均値は50％を下回った。各チームが選択したBest modelについては、第1回と第2回のプロジェクト両方に参加したチームで精度の向上が比較的良好な傾向があった。得られ成果を総括し令和5年に論文公表も果たした。

・機械学習モデルの試行 3-iii)

最初の検討として、これまでに構築された大規模データベースであるZINCでのデータ学習済みのTransformerモデル(ZINCモデル)を用い、 ハンセンデータの化合物の数値化に取り組んだ。その結果、 翻訳精度は25.5%であり、著しく低下した。同指標はPubChemデータ学習済みモデル(PubChemモデル)でも同様に低く, 30.6%であった。一方、ZINCとPubChemでは、一般にケミカルスペースが広いとされる後者の翻訳精度が高かったことから、それぞれのTransformerモデルが受容可能なSMILES表記の違いに起因していることが示唆された。

翻訳精度が低いこれらのモデルを用いてハンセンデータの記述子を生成し、当該記述子を入力としたXGBoost（Tree系の非線形な機械学習モデル。デフォルトパラメーターでのモデルの性能が比較的高く、様々な機械学習タスクで用いられている。）によるAmes変異原性情報の予測を行った。結果は、変異原性陽性・陰性の精度 (分類精度)はZINCモデル, 及びPubChemモデル由来の記述子を使った分類モデルで84.5%、及び83.9%を示した。

C.2. 代謝予測に基づく反復投与毒性リードアクロスモデルの高度化に関する研究（山田）

既存の代謝予測モデルの出力は、反応部位予測と代謝物予測に大別できた。生物種はヒトまたは齧歯類あるいは両方を対象としているが、明示されていないものもあった。学習データセットの情報は、モデルの適用範囲の確認に有用であるが、商用モデルではアクセスできることは稀で、研究機関が開発した無償モデルでも、データセットは非公開のものが多かった。開発後のメンテナンスやアップデート、公開が継続されていないモデルも多く、研究開発で得られた成果の継承、発展が難しいことが懸念された。本研究では、化学物質審査や安全性評価研究で国際的に使用の実績があり、モデルの継続的な更新が期待される知識ベース型のMeteor Nexus (Meteor)、機械学習による統計ベース型のGLORYx、ヒューリスティック型のTIMESを選定し、解析に用いることとした。

続いて、代謝予測に基づく反復投与毒性予測の事例を検討した。クロロニトロベンゼン類を対象に、化審法スクリーニング評価を想定して、リードアクロスによって反復投与毒性の主要な標的と毒性レベルを予測した。

既存情報の収集と解析により、ニトロ基のアミノ基への還元の過程で生成される反応性が高いN-水酸化体またはニトロソ体による生体高分子との付加体形成およびグルタチオン(GSH)との抱合反応によるGSH枯渇が、溶血および肝毒性発現に関わるとする類似性の仮説が設定された。そこで、評価対象物質に対する類似物質の実測代謝物（クロロアニリンおよびGSH抱合体）を3つの代謝予測モデルが正しく予測できるかを検証した。このクラスの物質の代謝については、Meteorが正しい予測を適切な根拠情報とともに提示することを確認した。そこで、評価対象物質

の代謝をMeteorで予測し、その類似性に基づき、類似物質の既存の毒性データの信頼性及び毒性を過小に予測しないことなどに留意して適切な類似物質を選定した後、対象物質の最も感受性が高いと考えられた毒性エンドポイント（溶血影響）とNOAEL値をリードアクロスにより予測し、不確実性係数を除して、化審法スクリーニング評価の有害性クラス分類を行った。

炭素数2かつハロゲン数2~6のハロアルカン類は、ラットに対して肝毒性を引き起こすが、構造と毒性の強さとの関係は複雑である。既存の毒性機序に関連する情報を統合すると、主に肝のCYP2E1等により還元的脱ハロゲン化を受けて生成する反応性が高いハロゲン化エチルラジカルが、強い肝毒性に関連している可能性が示唆された。一方、分子内にメチル基をもつハロアルカンは、気体への溶解度が高く、肺から速やかに排出されることにより、肝を含めて全身の毒性が低減することが示唆された。

強い肝毒性が観察され、実測の代謝データがあるハロアルカン類の肝臓における還元的脱ハロゲン化の予測は、MeteorおよびTIMESが優れていることが示された。肝毒性既知で代謝データがない物質を、リードアクロスで予測できることを事前に確認した後、毒性と代謝データがない評価対象物質を、代謝予測結果に基づき既存の類似物質とグループ化し、リードアクロスを行うことにより、肝毒性とそのNOAEL値を安全サイドに立って予測できた。

低毒性物質のカテゴリー化については、NIHS反復投与毒性統合DB（1518物質、1908試験）から、189の低毒性物質の化学構造を抽出した。それらをPubChem等に登録されているADME情報と関連付けることにより、低毒性物質を化学構造とADMEの類似性の観点から10個のカテゴリーを作成した。

続いて関連する既存データの量および新規性の観点からベンゼンスルホン酸類カテゴリーを優先的に選択して、その妥当性を評価した。ADMET Predictor、OECD QSAR Toolbox、CompTox Chemicals Dashboardを用いてトキシコダイナミクス（TD）およびトキシコキネティクス（TK）に関する*in silico/in vitro*プロファイリングを行った結果、極性の大きいスルホ基の作用により、体内に吸収され、代謝はあまり受けず速やかに排泄されること、化学反応性や生物活性は総じて高くないことから、反復経口投与では低毒性のカテゴリーとすることができると考えられた。定義された構造領域とTKパラメータ領域に基づき、未試験カテゴリー物質の28日間反復投与毒性をリードアクロスにより予測するケーススタディを行った。

実験動物で観察された主要な毒性のヒトへの外挿に対して、その信頼性を向上させる観点から、ヒトCYP代謝予測モデルの化学物質に対する性能を評価した。ヒトの主要薬物代謝酵素であるCYP3A4を対象に、2Dモデル（SMARTCyp、ADMET Predictor、GLORY）を選択した。代謝物構造または代謝部位の予測精度を検証したところ、いずれのモデルも比較的よい予測精度が得られたが、反応機序により予測精度は異なっており、特にN-脱アルキル化反応は高い予測性を示した。一方、環の水酸化反応は、反応部位の予測性は高くなかった。反応部位の予測精度が極めて高い（≥99%）とされるYamazoeの基質テンプレートシステムに基づくモデルの利用には、立体有機化学の専門的知識と、Chem3D上の手動の操作が必要である。ハードウェアおよびソフトウェアの動作環境の整備とワークフローの理解・習熟に取り組み、基質テンプレートへの当てはめが比較的容易な低分子について、代謝部位予測の再現性を確認できた。

<u>C.3. AOP に基づく生殖発生毒性の予測系構築に関する研究（広瀬）</u>

AOPの事例検証を行う為に、まずHDAC経路

に関連し得る試験法をDerek Nexusおよび文献情報を用いて、AOPに関連する6つの試験法と1つのDerekアラートを特定し、各試験法を適切なキーイベント（KE）に関連付け、各試験法における関連物質の生物活性データを整理した。Case 1では、催奇形物資として知られているバルプロ酸を例として取り上げ、HADC阻害に始まる各KEに関連する試験法でも陽性結果を得ることができ、結果として当該AOPを経由した発生毒性を示すことを確認できた。Case 2では、TG422試験が陽性であり且つ、HDAC阻害DBに含まれる2-エチル酪酸を例として検証が行われたが、HDAC阻害活性のデータが限定的であり、仮説の裏付けに必要な試験経験を選別することが可能となった。Case 3では、いくつかの類似構造にHDAC阻害活性があるが発生毒性データの無いスタチン類似構造化合物についての検討が行われ、そのうちの2つの化合物におけるゼブラフィッシュ陽性結果からHDAC阻害による潜在的な発生毒性物質群の推定が可能となった。

さらなる生殖発生毒性AOPの開発に向けて、ECHA REACHに提出されたOECDガイドラインに準拠した生殖発生毒性試験2278件の試験データをキュレーションし、1590化合物（陽性558物質、陰性1032物質）を解析用のデータセットとした。これを、Lhasaが所有する生殖発生毒性AOPネットワークに照らし合わせると、約半数の化合物について、何らかのネットワーク関連情報を含むことが確認できた。まず、ネットワークに含まれる化合物と完全に一致した構造による照合を行うと、検出感度度は約20％であったが、フィンガープリント法による類似構造について関連性を照合すると、Tanimoto類似閾値80％の場合には、感度は45％まで上昇した。さらに、現在のAOPネットワーク内でカバーしていないと思われる主要な偽陽性に関して調査を行ったところ、ミトコンドリア毒性に関するアラート、トポイソメラーゼII結合に関するアラートなどが含まれていた。

そこで、作成できる可能性の高いAOPとしてミトコンドリア機能障害による受精、胚の生存率、着床および胚胎児発生を含む複数の生殖発生過程と関連する情報を精査したところ、酸化的リン酸化脱共役やATP産生への影響が妊娠げっ歯類に投与すると卵成熟異常、胎仔体重減少および同腹仔数減少を引き起こすという情報を整理することによりAOPの構築の可能性があることが判った。その結果、雄性生殖毒性、雌性生殖毒性および胚胎児毒性につながるミトコンドリア機能障害に関係する6つのMIEを含むAOPネットワークの可能性が示された。また、データセットに含まれていた精巣毒性陽性の126物質に関して、AOPネットワークによるスクリーニングを行ったところ22の物質でAOPネットワーク内の14のMIEと2のKEに関連しており、DART AOPネットワーク内の8つのAOPに含まれていることが示された。類似構造に基づくスクリーニングでは、さらなる化合物の追加が可能であることも示された。

C.4. IVIVE用のPBKモデル構築のための基盤整備（松本）

令和3年度は、*in vitro*アッセイのIVIVEに係る既存研究を調査し、発生毒性試験，子宮肥大試験やハッシュバーガー試験等を想定した*in vitro*アッセイのIVIVEで使用された6つのPBKモデルをR言語で再現し、血中濃度を適切に再現できることを確認するとともに、物質に特異的なモデルパラメータである組織/血液間の分配係数や消化管からの吸収と肝臓での代謝、そして血漿蛋白質非結合割合 (fub) に関するオンラインデータベースや*in silico*推定ツールについても調査した。さらに、再現したPBKモデルとオンラインデータベースや推定ツールから得たパラメータ値を用いて、ビスフェノール A、*p*-ノニルフェノール等 8物質についてIVIVEにより15の*in vitro*アッセ

イの結果からOEDを算出し、論文に既報の子宮肥大試験の影響量との比較を行い、これらの結果からPBKモデルを用いたIVIVEを試行することは可能と判断した。

これを受けて、令和4年度は、化学物質の消化管からの吸収、血流による各組織への分配、肝臓での代謝、そして腎臓からの排泄の過程を記述する血液、脂肪、高血流組織、低血流組織、腎臓および肝臓の6コンパートメントから成る汎用的なマウスPBKモデルをIVIVEのケーススタディに適用するために構築した。このモデルで、2レベルで単回投与されたビスフェノールAのマウス血中濃度の時間変化を計算し、既報の測定値と比較し、検証した。その際、組織/血液分配係数は、DeJongh et al., (1997) の式によりモデル内で推定し、消化管からの吸収速度定数と肝クリアランスの導出に必要なPappおよびミクロソーム蛋白質ベースのクリアランス、そしてfubには、既報値を使用した。計算濃度と測定濃度には良い一致が見られ、構築したモデルによる体内動態の予測は妥当と判断した。並行して、PBKモデルに必要かつ重要な吸収と消失に係るパラメータ値を得るためCaco-2細胞を用いた細胞膜透過性試験と肝臓S9画分を用いた*in vitro*代謝安定性試験の実施を試みた。さらに、*in vitro*測定値、既報値および*in silico*手法で決定したパラメータ値を用い構築したマウスPBKモデルで、4-CPについて*in vitro*アッセイ濃度からマウスOEDへの換算係数を求め、この係数を用い、ERアゴニスト活性に関する2種類の*in vitro*アッセイのAC_{50}値やACC値をOEDに外挿した。4-CPのOEDはマウスの子宮肥大試験のNOELやLOELの値と大きな相違はなく*in vitro*アッセイデータのIVIVEは妥当と判断した。

令和5年度は、追加試験が必要な物質のリスクベースの優先順位付けのためのOED算出を主な目的とした「Nontargeted IVIVE」での使用が想定される米国NTPのIntegrated Chemical Environment (ICE) (https://ice.ntp.niehs.nih.gov/)の「PBPK」ツールと特定の有害影響を生じる同じAOPのMolecular initiating event (MIE) やKey event (KE)に対応した*in vitro*アッセイからOEDを定量的に予測するための「Targeted IVIVE」での使用が想定されるWageningen University and ResearchのWebツールボックス「PBK workflow」(www.qivivetools.wur.nl)を解析した結果を基に、基本構造がマウスモデルと同じラットとヒトのPBKモデルを構築し、マウスとラットのモデルを統合し、PBKモデルの汎用性向上を図った。構築したラットモデルは、2レベルで単回経口投与されたイソプロピルアルコールのラット血中濃度の時間変化の計算値と既報の測定濃度の比較により検証した。また、ヒトモデルも、単回投与されたアセトアミノフェンとイルベサルタンのヒト血中濃度の時間変化の計算値と既報の測定濃度の比較により検証した。以上により、同一の基本構造のPBKモデルで、ヒト、ラット、マウスのトキシコキネティクス（TK）の推定が可能になった。

細胞膜透過性試験については D、4-HB、PP 及び THE の４物質についてデータが得られたが、既知指標物質と本研究で得られた Papp を比較したところ良好な結果が得られなかったため、試験系の信頼性評価において、結果の使用は限定的にせざるを得ないと判断した。一方、肝臓 S9 画分を用いた *in vitro* 代謝安定性試験では 5 物質（4-HB, PP, CE2, Nor, THE）についてそれぞれの ke および CLint を算出することが出来た。

OED を算出する 4-CP、4-HB、CE2 および THE の 4 物質の各組織の対血液分配係数の推定値には最大でも 1.8 倍の差異しかなく、fub も最小の物質と最大の物質で 3.3 倍の差異であったが、Papp から算出した消化管からの吸収の 1 次速度定数および S9 蛋白質でのクリアランス測定値から計算した肝クリアランスには最小と最大で 12 倍の差異があった。これらのパラメータの変動に伴い PBK モデルで算出された血漿蛋白質非結

合態のピーク濃度に基づく *in vitro* 活性濃度のOED への換算係数には最小と最大で 97 倍の差異があった。これらの換算係数を基に ER アゴニスト経路に関連する 14 の *in vitro* アッセイの ACC から外挿された 4 物質の OED の算術平均は、4-CP で 125 mg/kg/day（有効アッセイ数：14）、4-HB で 276 mg/kg/day（有効アッセイ数：13）、CE2 で 80800 mg/kg/day（有効アッセイ数：1）、そして THE で 311 mg/kg/day（有効アッセイ数：13）であった。また、AC_{50} からの OED の算術平均は、4-CP で 484 mg/kg/day（有効アッセイ数：14）、4-HB で 677 mg/kg/day（有効アッセイ数：13）、CE2 で 41300 mg/kg/day（有効アッセイ数：1）、そして THE で 981 mg/kg/day（有効アッセイ数：13）であった。

子宮肥大試験のエストロゲン様作用陽性物質（4-CP, THE）および 陰性物質（CE2）の OED と子宮肥大試験の NOAEL は概ね一致していた。しかし, 経口投与で陰性・皮下投与で陽性物質である 4-HB については、OED が陽性判定に相当する数値を示した。

C.5. 機械学習を用いた皮膚感作性試験代替法の開発と化学物質のリスク評価への活用に関する研究（安部）

これまでに我々が開発した皮膚感作性の強度指標（LLNA EC3 値）の予測モデルを基に、Defined Approachのガイドライン（No.497）において検討された化学物質の試験情報を使用してモデルの改良を行った。LLNA EC3値情報が得られた154物質を用いて、XGBoost 1.7.3 (python 3.8.13)による回帰モデルを構築し、層化5分割交差検証による内部検証を実施した。モデルの適用領域判定は、説明変数を使用したk近傍法からデータ密度の高い領域を設定する方法と、皮膚感作性に関する *in vitro* 試験法（DPRA, KeratinoSens™, h-CLAT）の実験結果を用いて設定する方法を組み合わせた。Hoffmann (2022)の72物質を用いて外部検証も実施した。内部検証では決定係数R2値が0.67であった。また、GHS区分による3段階の感作性強度カテゴリーに予測EC3値を分類したところ、適用領域内物質における一致率は0.79だった。外部検証の適用領域内物質におけるGHS区分の一致率は0.50であった。本モデルはOECDのQSAR Assessment Frameworkに関するガイダンスを基に、*in silico*予測モデル評価について報告書式（QSAR model reporting format）に従って検討した。

KeratinoSens™の予測モデル化では、Hoffmann (2018)らの文献から122物質を訓練用データセット、Urbisch (2015)らの文献から102物質を検証用データセットとした。MOEを用いて算出した分子記述子とDPRAの実験値2種（システインペプチド減少率とリジンペプチド減少率）の計444種から選択された7種の記述子を説明変数とした。XGBoost 1.4.2 (python 3.8.12)による分類モデル（KeratinoSens™の陽性、陰性を判別）は、検証用データセットにおいて、正確度0.80、ROC-AUC 0.84の高い予測性能を示した。さらに、Defined Approachである2 out of 3 DA (OECD TG No.497)の組み合わせ評価において、使用するKeratinoSens™の結果を実験値の場合と、我々のモデルによる予測値の場合で比較した。検証用データセットに用いたUrbisch (2015)らの文献から48物質を用いて、2 out of 3 DAによる感作性判定結果と、LLNAにおける感作性の有無の一致率を確認した。KeratinoSens™の実験値を使用した2 out of 3 DAでは、LLNAの結果との一致率0.73、感度 0.85、特異度 0.47 だった。一方で、KeratinoSensTMの*in silico*予測値を使用した場合は、一致率0.77、感度0.82、特異度0.67だった。以上の結果から、KeratinoSens™の予測モデルは組み合わせ評価において有用である可能性が示唆された。

ヒトの皮膚感作性予測モデルにおいて、Golden (2020)、Hoffmann (2018)の文献情報を用いて、陽性293物質、陰性182物質を学習用データセットとした。また、検証用データセットは

Hoffmann (2018)らの文献情報から40物質（陽性20物質、陰性20物質）を検証用データセットとした。MOEを用いて算出した分子記述子から変数重要度の高い134種を説明変数とし、ヒトの感作性の有無を目的変数とした。検証用データセットにおいて、感度0.85、特異度0.65、ROC-AUC 0.88であり、高い予測性能を示した。モデルはPython3.8.5のCatBoostを使用した。

D. 考　察

D.1. 遺伝毒性評価に資するAmes/QSARの深化（杉山・古濱・本間）

・安衛法試験結果の再評価（1-i) および2-i)）

第1回Ames/QSAR国際チャレンジプロジェクトで評価対象とした12,140物質に対し可能な範囲で、安衛法試験結果を見直し精査を完了させた。結果取違の様な単純なミスも含むが、110物質（約1%）は専門家判断による結果変更があった。今後は、どの様な構造・物性の特徴がある物質で専門家判断による変更が行われたのか考察を進めることで、優先的に専門家判断を必要とする物質の方向付けが可能となる。

また、精査で得られた情報から、TA100、TA98、TA1535株で91%の陽性を検出できる。同様に代謝活性化条件を考慮しないと27%の陽性の検出が不可能である。これらは新規化学物質の陽性の特徴を示す情報になる。今後は化学物質の部分構造・アラート構造毎に菌株依存性や代謝活性化依存性について調査・考察することが、Ames/QSAR深化に不可欠な変異原性メカニズム理解の上で必要となるだろう。

・*N*-ニトロソアミンに注目したAmes試験の実施(1-ii)と2-ii)と3-i))

ii) データベースの精緻化が望まれる物質として、陽性の懸念は高いが陰性の報告がされている物質やAmes/QSAR予測が難しいアラート構造が挙げられる。これらの物質に対し、Ames試験を行い、データをアップデートすることはAmes/QSARの改善に直接寄与する。令和3，4年度は芳香族*N*-ニトロソアミンに注目して、15試験を実施した。Ames試験陰性の物質には立体的にかさ高い芳香環とニトロソアミンが結合している特徴も見受けられた。なお、詳細は各年度報告書に記載したが、既存の市販QSARツールの予測結果やデータベースの結果との不一致も明らかになった。今後は、発がん性や他の遺伝毒性エンドポイントとの関連性に関する考察を深め毒性予測の深化につなげる必要もある。

令和5年度は典型的な*N*-ニトロソアミンであるNDMA、NDEAを含むAmes試験を実施した。NDMAやNDEAは一般に代謝活性化条件で陽性であることが知られているが、過去に様々な条件で試験が実施され菌株や条件によって結果が異なる報告がある。また、これまでの試験結果は試験条件が一定でない（OECD TG準拠の5菌株の試験ではない等）。今回OECD TG471に準拠した試験を実施したうえで、比較的最近の報告であるBringezuらの結果と比較検討した。プレインキュベーション時間は、我々は20分だが、Bringezuらは60分であった。いずれの時間もOECD TG471に準拠しているが、NDMA陽性結果には影響を及ぼすと考えられた。更に、我々も引用文献も10% Rat S9で実施したが、10 % Rat S9の代謝活性化では検証は不十分な可能性があり、近年海外の規制の場で採用されつつあるEnhanced Ames Test (EAT) Conditions for N-nitrosaminesを適用する検証も必要と考えられる。

・第２回Ames/QSAR国際チャレンジプロジェクト(2-iii)と3-ii))

iii) 第2回プロジェクトのBest modelで感度が60％以上の4モデルの共通点は、第1回プロジェクトに参加したチームであった。過去のチャレンジでの経験が精度向上に資する要因のひとつだと考えられる。試験結果の陽性の比率の低さもあるが新規物質の感度の低さが課題であることや、経験値が高いモデルで精度が高くなる傾

向がみられることは、Ames/QSARを行政の場で活用する際の基本情報として役立つと見込まれる。以上、モデル開発者のボトムアップにつながるプロジェクトを完結させた。得られた成果は、Ames/QSARの結果を行政における判断基準として積極的に活用する統合的な遺伝毒性評価系開発の基盤として期待できる。

・機械学習モデルの試行3-iii)

今回用いたTransformerモデルは, 低い翻訳精度が示すようにハンセンデータ内の化合物構造の全長を認識できていないことが確認された。その原因としては、化学言語モデルである今回用いたTransformerモデルが、ハンセンデータに固有のSMILES表記のスタイルを把握できていない可能性が挙げられる。このようなSMILES表記の方言とも呼べるデータセットごとの揺らぎを研究し解決することは、適切な化合物構造情報の抽出につながり、Ames変異原性予測モデルの発展に資すると期待される。特に、今回用いているTransformerモデルはアテンション機構(トークンと呼ばれる単位の集合で表現可能なデータの学習に際し、どのトークンにどれだけ重みをつけるかを同時に学習するというアルゴリズム)を有しており、これを可視化する方法論を実装することで、化合物構造中のどの部位に基づいてAmes変異原性を判断しているか把握可能になると期待される。

D.2. 代謝予測に基づく反復投与毒性リードアクロスモデルの高度化に関する研究（山田）

反復投与毒性の発現につながる代謝予測の信頼性を評価し、向上させる方法を検討した。多くの代謝予測モデルは、推定代謝物構造を数多く提示し、その取捨選択はユーザーに委ねられる。専門家判断を支援し、透明性と一貫性のある代謝予測を実現するためには、評価対象物質の類似物質の実測代謝を正しく予測できるか、すなわちそれぞれのモデルの局所的な予測精度を評価し、予測性が高いモデルの結果を適用することが、有効であると示唆された。

このアプローチは、OECDのQSAR Assessment Frameworkプロジェクトで検討された予測結果の信頼性評価の考え方の一部と調和させている。他の物質群への展開を図って試行事例を積み重ねることにより、代謝の類似性に基づく反復投与毒性予測が可能となる範囲を拡大させることが期待される。本アプローチの効率化のためには、実測の代謝情報を集約する必要がある。令和4~5年度は、点在する既報の代謝物構造情報の収集と一元化を進めた。

化審法のスクリーニング評価では、安全性サイドに立ち毒性を過少に評価しないことが求められる。そしてリスク懸念がある物質は次の段階の評価へ進む。したがって、低毒性物質を高い信頼性で予測し、その結果をスクリーニング評価に用いる方法を確立することは、リスク評価スキーム全体の効率化の観点から重要である。しかし、構造アラートがない、該当するAOPがないといった情報だけでは低毒性の予測を正当化するのに十分ではない。毒性が発現しにくい理由を説明することが必要である。そこで、低毒性物質を構造とADMEの観点からグループ化し、経口暴露後に１）吸収されにくいと考えられる、２）吸収されるが速やかに代謝を受けて胆汁もしくは尿中に排泄されると考えられる、３）消化管から吸収されるが、未変化体として尿中に排泄されるカテゴリーに分類した。

TKに関する実測値は限られており、*in silico*モデルの活用が求められる。TKに関連するパラメータ値を用いる時に留意すべき点として、モデルの適用範囲と全体的な予測精度に関する不確実性を同定し評価しておくことが挙げられる。それを実施するために必要な情報が利用できない場合には、予測モデルは限られた実測データを再現できるか、すなわち局所的な精度評価を実施することが求められる。独立した異なるモ

デルから同一構造に対する一貫した（一致する）予測が得られ、それを統合して最終結果が生成される場合、個々の予測の不確実性を低減することができると考えられる。

CYP代謝予測モデルは、*in vitro*試験で検出が難しい代謝物を含めて、想定代謝物の構造情報を提示することから、毒性予測に有用である。CYP3A4の代謝は、ラットとヒト間の種差が比較的小さいと考えられており、ヒトCYP3A4の代謝予測の結果は、動物試験の結果のヒトへの外挿に対し有益な情報を提供できると期待される。予測精度の評価を継続し、複数のモデルを組み合わせて試用するなどにより、代謝予測の不確実性を低減させ、信頼性を向上させる方法を確立する必要がある。

D.3. AOP に基づく生殖発生毒性の予測系構築に関する研究（広瀬）

令和 3 年度の事例研究による検証では、HDAC 阻害から催奇形性に至る AOP を用いて、リスク評価における適用ケースに焦点を当てた。その結果、AOP ネットワークの各 KE に関連する試験法の結果を利用することによって、評価者が更なる仮説を立て、追加の試験戦略実施できるようになることや、更なる試験法の結果と解釈を関連付けることにより、複数の試験法を組み合わせた総合的な試験戦略の開発に役立つことも明らかとなった。令和 4 年度に実施した既存 AOP ネットワークを用いた ECHA REACH の生殖発生毒性試験データセットに対する陽性予測の検証では、20％程度の検出感度しかなく、さらなる AOP の開発が必要であることも示された。しかし、AOP ネットワークとの関連性の構造検索において、類似構造検索も活用すると、感度は 45％まで増加することが示された。偽陽性を示した物質を検証することで、現状の AOP ネットワークを改良することが可能であることも示された。この結果を受けて、令和 5 年度は可能性高いものとしてミトコンドリア毒性による生殖発生毒性の酸化的リン酸化脱共役などに基づく AOP ネットワークの可能性が示された。しかし、ミトコンドリアの機能は多様であり、複数の生物学的過程に関与していることからもミトコンドリア機能障害がは、化合物が持つ他のストレス要因によって発生毒性を誘発される可能性もありえることは考慮しておく必要がある。一方、データセットに含まれていた精巣毒性陽性物質に対しての AOP ネットワークのスクリーニングにおいては、22 の精巣毒性陽性化合物と関連する AOP が 8 つ特定された。さらに AOP ネットワークにリンクされた Derek Nexus アラートを調べた結果には、「雄性生殖毒性につながるグルタチオン減少」という AOP も含まれており、先行研究で開発してきた DART AOP ネットワークの性能が改善されていることも確認できた。

D.4. IVIVE用のPBKモデル構築のための基盤整備（松本）

化学物質に特異的なパラメータとして、log Kow、Papp、*in vitro*クリアランス（肝細胞、ミクロソーム蛋白質またはS9蛋白質ベース）およびfubの4つのみを使用する汎用的なPBKモデルを構築し、ERアゴニストを対象とした*in vitro*アッセイでの活性濃度をマウスのOEDに外挿した。得られたOEDとマウスの子宮肥大試験の結果と比較した。その結果、汎用的なPBKモデルを使用して短期曝露により生じ得る特定の有害影響のAOPのMIEやKEに関連した*in vitro*アッセイからOEDを導出可能なことが示された。しかし, 経口投与で陰性・皮下投与で陽性物質である4-HBについてOEDが陽性判定に相当する数値を示していたことから，経口経路における毒性を予測するために, 更に検討すべき観点があることが示された。

IVIVEに使用する汎用的なPBKモデルに関する問題点としては、物質に特異的なパラメータで

あるPapp、*in vitro*クリアランスおよびfubの測定は、いわゆるロースループットであり、パラメータ値を得るには時間が掛かることが挙げられる。今後，これらのパラメータの測定法のハイスループットアッセイ化の検討とともに、信頼できる*in silico*の推定法の開発が望まれる。

また、IVIVEを検討する*in vitro*アッセイとしては、ERアゴニストを対象としたアッセイを検討したが、米国NTPのICEでは、急性致死、がん、心毒性および生殖・発生毒性の作用機序と関連付けられた*in vitro*アッセイについても結果が公開されている。今後は、IVIVEの対象をこれらの作用機序と関連付けられた*in vitro*アッセイに拡大し、IVIVEアプローチの適用性拡大を検討していく必要もあると思われる。

D.5. 機械学習を用いた皮膚感作性試験代替法の開発と化学物質のリスク評価への活用に関する研究（安部）

OECDのDefined Approachのガイドライン（No.497）データを学習データとし、ガイドライン化されている*in vitro*試験結果とQSAR QSAR ToolBoxから得られる信頼性の高い情報のみを使用したLLNA EC3予測モデルは、NAMを活用した化学物質の皮膚感作性評価におけるDefined Approachとして有用な機械学習モデルとなる可能性が高い。また、KeratinoSens™を対象とした*in vitro*実験値の予測モデル化では、2 out of 3 DAの組み合わせ評価においても、実験値と同等またはそれ以上の性能が示され、*in vitro*試験の効率化も期待できる。ヒトの皮膚感作性予測モデルにおいて、化学物質の構造情報のみから、感作性の有無を判別する機械学習モデルを構築し、適切な検証用データにおいて性能の高さが確認できた。

構築した*in silico*モデルについて、OECDのQSAR Assessment Frameworkに関するガイダンスを基に、モデル報告書式（QSAR model reporting format）の項目を検討し課題を整理した。特に適用領域、データセットの信頼性、外部検証の実施については、規制評価における*in silico*モデルの活用においてさらなる検討が必要だと考えられる。

E. その他 -OECDにおける国際調和活動への貢献と最新動向の本研究事業へのフィードバック-

本研究班は、OECDと連携して新規評価手法の開発と国際調和の活動に貢献しつつ、最新の国際動向を収集して本研究へフィードバックさせることを目指している。

2019年のOECD QSAR Toolbox Management Group会議では、化審法既存点検事業の四半世紀に及ぶ試験報告書を用いて作成した生殖発生毒性のデータベースを、OECD QSAR Toolboxと共有することを表明し、信頼性と透明性が高いデータ提供を歓迎された。同データベースは完成し、データキュレーションとデータベースの構築方法、ケミカルスペースの分析結果などを取りまとめて2021年に論文発表した後、ヒト毒性エンドポイント予測に関する機能の大きな改良が行われたQSAR Toolbox ver.4.5（2022年公開）に実装された。QSAR Toolboxに格納されているECHA REACHなどの既存の生殖発生毒性データとは物質の重なりが極めて少なく、ケミカルスペースを拡張できたことから、新しいAOPの開発やカテゴリーアプローチによるリードアクロス予測の適用範囲の拡大が期待される。

2021年より開始されたOECD QSAR Assessment Frameworkプロジェクトは、化学物質の規制安全性評価のエンドポイントについて、そのQSARモデルの予測結果の信頼性を評価する方法の原則を、ガイダンスとして取りまとめることを目標とした。本研究班の専門家（古濱、山田）は、QSARモデルのデータセット構築、予測精度の評価、予測結果に基づく安全性評価のケーススタディの作成などの経験を活かして、本ガイダン

スの、"第1章：QSARモデルの規制評価"における"試験データの透明性と品質"、"第2章：QSAR結果の規制当局による評価"における"予測の信頼性"、"第4章：複数の予測から得られた結果の評価"及び具体的手順と実践的アドバイスを整理した"QSARモデルと予測結果の評価のためのチェックリスト"の開発に大きく貢献した。本OECDガイダンスは、2023年8月に公開された。

さらに、本ガイダンスに基づくAmes QSAR予測結果の信頼性評価のケーススタディを当該プロジェクトに提供し、OECDのQSAR関連のホームページから共有された(https://www.oecd.org/chemicalsafety/risk-assessment/oecd-qsar-toolbox.htm)。これらを踏まえて、その最新動向を本研究事業の成果へ取り込んだ。"分担研究5. 機械学習を用いた皮膚感作性試験代替法の開発と化学物質のリスク評価への活用に関する研究"で開発する新しい予測モデルには、本OECDガイダンスに基づき、予測モデルと予測結果の規制評価に必要な情報を整理した。また、OECD QSAR Assessment Frameworkの考え方は、全身毒性に関連する*in silico* NAMの予測モデルの評価や、その出力結果の信頼性評価にも適用を検討すべきであると考えられ始めており、"分担研究2. 代謝予測に基づく反復投与毒性リードアクロスモデルの高度化に関する研究"の成果の取りまとめに試行的に反映させた。

2023年のOECD QSAR Toolbox Management Group会議は、QSAR Toolboxの開発とQSARの規制利用活動の議論の2部構成となった。研究代表者は、後者において毒性データベース、統合的アプローチを支えるNAM、QSAR開発、新しいAOP等の本研究班のこれまでの成果を発表した。規制安全性評価の現場が抱える諸課題の解決に資する実際的な取り組みに対して評価を得て議論を活性化させたとともに、同会議参加者からはこれらの成果をQSAR Toolbox等へ共有することに期待が寄せられた。

F. 結　論

精緻化した安衛法Ames試験結果のデータベースで得られた菌株や代謝活性化情報と陽性の関係について解析を進めた。Ames陽性の懸念が高いN-ニトロソアミン18化合物のAmes試験実施し、試験結果の考察を進め、*in silico*でのAmes変異原性評価に資する知見を得た。さらに、第2回Ames/QSAR国際チャレンジプロジェクトを総括して成果を公表し、Ames/QSARの社会実装に有益となる情報の公開を果たした。深層学習モデルであるTransformerモデルは、Ames変異原性予測に資すると期待される。

代謝予測に基づく反復投与毒性リードアクロスモデルの高度化については、種々の代謝予測モデルと類似物質の既存の代謝データを活用することにより、予測の信頼性を評価して不確実性を低減させ、さらに代謝の類似性に基づいて毒性発現を予測する方法の妥当性を検証した。ケーススタディを積み重ねることにより、このアプローチの適用範囲の拡大が期待できる。

生殖発生毒性予測系構築では、ヒストン脱アセチル化酵素阻害から催奇形性へ至るAOPを用いたリスク評価への適用事例において、AOP中の各キーイベントに関連する試験法の結果によるAOPの堅牢性の検証、追加の試験、類似化合物の機序予測など総合的な試験評価戦略の開発に役立つことが明らかとなった。また、ECHA REACHのデータセットを整備して解析した結果、既存AOPネットワークの改良が可能であることが示され、可能性の高いAOPとしてミトコンドリア毒性による生殖毒性のAOP の作成を試みた。さらにデータセットに含まれる精巣毒性についてもAOPネットワークによるスクリーニングを行うことでさらなるAOPの可能性を見いだした。

IVIVE用のPBKモデル構築のための基盤整備では、発生毒性や内分泌かく乱影響を対象とした

IVIVE手法を用いた米国および欧州の先行研究を調査し、R言語によって予測モデルを再現できた。次に、内分泌かく乱影響に関するIVIVEのケーススタディに適用可能なマウスPBKモデルを構築し、既報のマウス血中濃度で検証し、適切に化学物質の体内動態を再現することを確認した。さらに、PBKモデルによる逆用量推定に基づくIVIVEにより、４物質についてマウスの子宮肥大試験の結果予測を行う事が出来た。１物質については、予測と実験結果に乖離があり、課題が確認されたが、ヒト健康リスク評価で活用されるであろうOEDを定量的に示すことが出来たことに一定の意義があると考える。

機械学習による皮膚感作性の予測モデル構築については、感作性強度を予測する回帰モデルを構築し、OECD QSAR Assessment Frameworkガイダンスに基づいた(Q)SARモデル評価項目について検討した。また、皮膚感作性のキーイベントである*in vitro*実験結果を*in silico*で予測する高性能なモデルを構築し、Defined Approachへの適用を検証した。化学物質の構造情報のみからヒトでの皮膚感作性の有無を判別する高性能なモデルも構築し、適用領域を検討した。

以上、本研究では、化学物質の規制安全性評価に関連するエンドポイントを対象に、*in silico*予測モデルの開発・改良のための高信頼性データセットの作成、予測モデルの開発・評価、代謝やAOPに基づく毒性予測のケーススタディの実践による予測結果の信頼性評価などに取り組んで着実にその目標を達成すると共に、新しい知見を幅広く蓄積した。

ヒト健康に係るリスク評価プロセスは、多くは実験動物の*in vivo*試験データに依存してきた。一方、海外リスク評価機関や規制当局は、新しい動物試験要求を最小限に抑え、NAM活用を促進するロードマップをこの2, 3年に相次いで公表した。これらの戦略に基づき、NAMの開発と活用の研究が今後活発に促進されると予想される。

本研究の成果は、*in silico/in vitro* NAMのデータをリスク評価にうまく統合するための科学的に堅牢な方法の確立に資する先駆的な成果であると位置づけられる。そして、国際動向を踏まえた化学物質の統合的ヒト健康リスク評価系の基盤となるものである。

G. 研究発表

<u>1. 論文発表</u>

1. <u>Furuhama A</u>, Kitazawa A, Yao J, Matos dos Santos CE, Rathman J, Yang C, Ribeiro JV, Cross K, Myatt G, Raitano G, Benfenati E, Jeliazkova N, Saiakhov R, Chakravarti SK, Foster RS, Bossa C, Battistelli CL, Benigni R, Sawada T, Wasada H, Hashimoto T, Wu M, Barzilay R, Daga PR, Clark RD, Mestres J, Montero A, Gregori-Puigjané E, Petkov P, Ivanova H, Mekenyan O, Matthews S, Guan D, Spicer J, Lui R, Uesawa Y, Kurosaki K, Matsuzaka Y, Sasaki S, Cronin M, Belfield SJ, Firman JW, Spînu N, Qiu M, Keca JM, Gini G, Li T, Tong W, Hong H, Liu Z, Igarashi Y, Yamada H, <u>Sugiyama K,</u> <u>Honma M</u>. Evaluation of QSAR models for predicting mutagenicity: outcome of the Second Ames/QSAR international challenge project. SAR QSAR Environ. Res. 2023;34:983-1001.
2. <u>Furuhama A</u>, Kasamatsu T, <u>Sugiyama K, Honma M</u>. Curation of more than 10,000 Ames Test Data Used in the Ames/QSAR International Challenge Projects. In “QSAR in Safety Evaluation and Risk Assessment” “QSAR in Safety Evaluation and Risk Assessment” edited by Dr. Huixiao Hong. (Elsevier) Academic Press. 2023. p 365-372. DOI: 10.1016/B978-0-443-15339-6.00022-9
3. Thakkar S, Slikker W, Yiannas F, Silva P, Blais B, Chng KR, Liu Z, Adholeya A, Pappalardo F, Soares MdLC, Beeler P, Whelan M, Roberts R, Borlak J, Hugas M, Torrecilla-Salinas C, Girard P,

Diamond MC, Verloo D, Panda B, Rose MC, Jornet JB, Furuhama A, Fang H, Kwegyir-Afful E, Heintz K, Arvidson K, Burgos JG, Horst A, Tong W. Artificial intelligence and real-world data for drug and food safety – A regulatory science perspective. Regul. Toxicol. Pharmacol., 2023:140:105388.

4. 山田隆志, 丸山（蔦田）多恵子. 化学物質のヒト健康影響評価に資するリードアクロス -行政リスク評価への適用を目指して-（CICSJ Bulletin 2023, Vo.41, No.1, 6-10.
5. Myden A, Stalford SA, Fowkes A, White E, Hirose A, Yamada T. Enhancing developmental and reproductive toxicity knowledge: A new AOP stemming from glutathione depletion. Curr Res Toxicol. 2023 Sep 15:5:100124.
6. Yamazoe Y, Murayama N, Kawamura T, Yamada T. Application of fused-grid-based CYP-Template systems for genotoxic substances to understand the metabolisms. Genes Environ. 2023 Aug 7;45(1):22.
7. 山田隆志. Next Generation Risk Assessment の現状と行政利用へ向けた課題（動物実験代替法と New Approach Methods の開発・利用動向. 監修：小島肇夫. 発行日：2023.9.29, シーエムシー出版）
8. Matsumoto M, Murata Y, Hirose N, Shigeta Y, Iso T, Umano T, Hirose A. Derivation of subacute guidance values for chemical contaminants of drinking water quality standard in Japan. Regul Toxicol Pharmacol. 2023 Jun;141:105401. doi: 10.1016/j.yrtph.2023.105401.
9. Murata Y, Natsume M, Iso T, Shigeta Y, Hirose N, Umano T, Horibata K, Sugiyama K, Masumura K, Hirose A, Matsumoto M. *In vivo* mutagenicity assessment of styrene in MutaMouse liver and lung. Genes Environ. 2023 Apr 11;45(1):12. doi: 10.1186/s41021-023-00270-9.
10. Hirose N, Umano T, Murata Y, Iso T, Hasegawa S, Inoue K, Yamada T, Masumura K, Matsumoto M. Summary information of human health hazard assessment of existing chemical substances (IX). Bull. Natl Inst. Haelth Sci. 2023, 141, 61-68
11. Murata Y, Suzuki K, Shigeta Y, Iso T, Hirose N, Umano T, Horibata K, Sugiyama K, Hirose A, Masumura K, Matsumoto M. *In vivo* mutagenicity assessment of orally treated tert-butyl hydroperoxide in the liver and glandular stomach of MutaMouse. Genes Environ., 2023, 45(1), 29.
12. Ashikaga T, Narita K, Kobayashi M, Tachibana S, Murasaki W, Suzuki M, Ambe K, Tohkin M. Skin sensitization potency prediction of ingredients in hair colorants using *in silico* models of machine learning. Journal of Japanese Cosmetic Science Society. 47(1), 1-5, 2023.
13. 安部賀央里. 皮膚感作性強度の予測に向けた機械学習による *in silico* アプローチ. フレグランスジャーナル, 7, 16-20, 2023
14. 安部賀央里. 機械学習を用いた皮膚感作性試験代替法の開発. コスメティックステージ, ２月号, 60-65, 2023.
15. 安部賀央里. 【第Ⅴ編　香粧品業界】 第４章　皮膚感作性 in silico 予測モデル（動物実験代替法と New Approach Methods の開発・利用動向. 監修：小島肇夫. 発行日：2023.9.29, シーエムシー出版）
16. Petkov PI, Ivanova H, Honma M, Yamada T, Morita T, Furuhama A, Kotov S, Kaloyanova E, Dimitrova G, Mekenyan O. Differences between *in vitro* and *in vivo* genotoxicity due to metabolism: The role of kinetics. *Comp. Toxicol.*, 2022; 22, 100222.
17. Murayama N, Yamada T, Yamazoe Y. Application of CYP1A2-Template system to understand metabolic processes in the safety

assessment. *Food Safety*, 2022, 10, 129-139.
18. Yamada T, Kawamura T, Tsujii S, Miura M, Ohata H, Katsutani K, Matsumoto M, Hirose A. Formation and evaluation of mechanism-based chemical categories for regulatory read-across assessment of repeated-dose toxicity: a case of hemolytic anemia. *Regul. Toxicol. Pharmacol*; 2022, 136, 105275.
19. Yamada T, Katsutani K, Maruyama T, Kawamura T, Yamazaki H, Murayama N, Tong W, Yamazoe Y, Hirose A, Combined risk assessment of food-derived coumarin with *in silico* approaches. *Food Saf*ety. 2022, 10, 73-82.
20. Watanabe-Matsumoto S, Yoshida K, Meiseki Y, Ishida S, Hirose A, Yamada T. A physiologically based kinetic modeling of ethyl tert-butyl ether in humans–An illustrative application of quantitative structure-property relationship and Monte Carlo simulation. *J. Toxicol. Sci.* 2022, 47, 77-87.
21. Lee BM, Lee SH, Yamada T, Park S, Wang Y, Kim KB, Kwon S. Read-across approaches: Current applications and regulatory acceptance in Korea, Japan, and China. *J. Toxicol. Environ. Health*. A. 2022, 85, 184-197.
22. Tanabe S, Hirose A, Yamada T. Adverse Outcome Pathway on Histone deacetylase inhibition leading to testicular atrophy. OECD Series on Adverse Outcome Pathways No. 17.
23. 山田 隆志. Cefic LRI/ILSI Europe Joint Workshop での Carcinogen Dose Response Database for Threshold of Toxicological Concern（TTC）の概要ならびに TTC に関する近年の国際動向. イルシー 2022, 150, 4-12
24. Ohno A, Okiyama Y, Hirose A, Fukuhara K. The position of the nitro group affects the mutagenicity of nitroarenes. *Toxicol Appl Pharmacol.* 441, 115974, 2022.
25. Anklam E, Bahl MI, Ball R, Beger RD, Cohen J, Fitzpatrick S, Girard P, Halamoda-Kenzaoui B, Hinton D, Hirose A, Hoeveler A, Honma M, Hugas M, Ishida S, Kass GE, Kojima H, Krefting I, Liachenko S, Liu Y, Masters S, Marx U, McCarthy T, Mercer T, Patri A, Pelaez C, Pirmohamed M, Platz S, Ribeiro AJ, Rodricks JV, Rusyn I, Salek RM, Schoonjans R, Silva P, Svendsen CN, Sumner S, Sung K, Tagle D, Tong L, Tong W, Eijnden-van-Raaij JVD, Vary N, Wang T, Waterton J, Wang M, Wen H, Wishart D, Yuan Y, Slikker W Jr. Emerging technologies and their impact on regulatory science. *Exp. Biol. Med.* (Maywood) 2022, **247**, 1-75.
26. Kawashima A, Inoue K, Ushika K, Kai K, Suzuki H, Matsumoto M, Masumura K, Hirose A. Derivation of human health hazard assessment values for toluene under the Japanese Chemical Substances Control Law. *Fundam. Toxicol. Sci.,* 2022, 9(4), 123-133.
27. Murata Y, Umano T, Iso T, Shigeta Y, Hirose N, Inoue K, Yamada T, Masumura K, Matsumoto M. Summary information of human health hazard assessment of existing chemical substances (VIII). *Bull. Natl Inst. Haelth Sci.* 2022, 140, 54-60.
28. Iso T, Natsume M, Murata Y, Shigeta Y, Hirose N, Umano T, Horibata K, Masumura K, Sugiyama K, Matsumoto M, Hirose A. Absence of *in vivo* mutagenicity of 4,4'-oxybis(benzenesulfonohydrazide) in liver and glandular stomach of MutaTM mice. *Fundam. Toxicol. Sci.,* 2022; 9(2), 31-36.
29. Ambe K., Akita A., Wei J., Yoshii Y., Onishi M., Tohkin M. Comparison of Efficacy and Safety of Direct Oral Anticoagulants and Warfarin between Patients in Asian and Non-

Asian Regions: A Systematic Review and Meta-Regression Analysis. *Clin Pharmacol Ther.* 2023, 113(6), 1240-1250.

30. Kasamatsu T, Kitazawa A, Tajima S, Kaneko M, Sugiyama K, Yamada M, Yasui M, Masumura K, Horibata K, Honma M. Development of a new quantitative structure–activity relationship model for predicting Ames mutagenicity of food flavor chemicals using StarDrop™ Auto-Modeller™. *Genes and Environ.* **43**, 16, 2021.
31. Rovida C, Escher SE, Herzler M, Hougaard Bennekou S, Kamp H, Kroese, DE, Maslankiewicz L, Moné MJ, Patlewicz G, Sipes, N, van Aerts L, White A, Yamada T, van de Water B. NAM-supported read-across: From case studies to regulatory guidance in safety assessment. ALTEX. 2021, 38(1), 140-150.
32. Yamazoe Y, Yamada T, Hirose A, Murayama N. Deciphering Key Interactions of Ligands with CYP3A4-Template* system. *Food Safety (Tokyo)* **9**(1), 10-21, 2021.
33. Yamada T, Kawamura T, Maruyama T, Kurimoto M, Yamamoto H, Katsutani N, Hirose A. Quantitative structure-activity relationship and a category approach to support algal toxicity assessment of human pharmaceuticals. *Fundam. Toxicol. Sci.* **8**, 195-204, 2021.
34. Yamada T, Miura M, Kawamura T, Ushida K, Inoue K, Kuwagata M, Katsutani N, Hirose A. Constructing a developmental and reproductive toxicity database of chemicals (DART NIHS DB) for integrated approaches to testing and assessment. *J. Toxicol. Sci.* **46**, 531-538, 2021.
35. Matsumoto M, Takano M, Takabe M, Yamaguchi N, Iso T, Shigeta Y, Murata Y, Hirose N, Inoue K, Hirose A. Initial hazard assessment of ethyl(dimethyl)(tetradecyl)ammonium ethyl sulfate: Genotoxicity tests and combined repeated-dose and reproductive/developmental toxicity screening in rats. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* **122**, 104914, 2021.
36. Matsumoto M, Fujii S, Hirose N, Iso T, Shigeta Y, Murata Y, Inoue K, Hirose A. Repeated-dose and reproductive/developmental toxicity screening of polyoxymethylene in rats. *Fundam. Toxicol. Sci.* **8**(4), 103-116, 2021.
37. Iso T, Shigeta Y, Murata Y, Hirose N, Inoue K, Yamada T, Hirose A, Matsumoto M. Summary information of human health hazard assessment of existing chemical substances (VII). *Bull. Natl Inst. Haelth Sci.* **139**, 71-78, 2021.
38. Ashikaga T, Ambe K, Suzuki M, Kurimoto M, Yamada T, Tohkin M. Establishment of a threshold of toxicological concern concept for skin sensitization by *in vitro*/*in silico* approaches. *Journal of Japanese Cosmetic Science Society.* **45**(4), 331-335, 2021.
39. Ambe K, Suzuki M, Ashikaga T, Tohkin M. Development of quantitative model of a local lymph node assay for evaluating skin sensitization potency applying machine learning CatBoost. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* **125**, 105019, 2021.
40. Ambe K, Ohya K, Takada W, Suzuki M, Tohkin M. *In silico* Approach to Predict Severe Cutaneous Adverse Reactions Using the Japanese Adverse Drug Event Report Database. *Clin. Trasnl. Sci.* **4**(2), 756-763, 2021.

2. 学会発表

1. Furuhama A, Maruyama T, Yamada T,

Sugiyama K, Honma M : Evaluating Ames mutagenicity predictions for 1,3,5-tris(2,3-dibromopropyl)-1,3,5-triazinane-2,4,6-trione under the OECD QSAR Assessment Framework. The 20th International Workshop on (Q)SAR in Environmental and Health Sciences (June 7 2023, Copenhagen, Denmark)

2. 古濱彩子、杉山圭一、本間正充： ニトロソアミンに関する情報提供 -NDMA と NDEA の Ames 試験概要-. 日本環境変異原ゲノム学会第 52 回大会 ICH M7/QSAR ワークショップ （2023.10.27・東京） 招待講演
3. 古濱彩子、 丸山(鳶田)多恵子、山田隆志、杉山圭一、本間正充： OECD QSAR 評価フレームワーク(QAF)の概要とケーススタディ. 日本環境変異原ゲノム学会第 52 回大会 (2023.11.12・福岡） ポスター
4. 山田隆志： 化学物質の規制安全性評価の国際動向: OECD (Q)SAR 評価フレームワーク (QAF) の概要. 日本薬学会第 144 年会 （2024.3.30, 横浜）
5. Rathman J, Yamada T, Yang C, Mostrag A, Hobocienski B, Ribeiro V, Barber C. : Computational decision workflows evaluation following the new OECD QSAR Assessment Framework. Society of Toxicology 63rd Annual Meeting (2024.3.11, Salt Lake City, US)
6. Yamada T, Tamehiro N, Teratani N : Case studies on refining risk assessment of food-related substances with New Approach Methods. 13th Global Summit on Regulatory Science (GSRS23) (Parma, 2023.9.27)
7. Yamada T, Katsutani N, Hirose A, Hill E, Fowkes A, Stalford S, Myden A : An Adverse Outcome Pathway for histone deacetylase inhibition leading to axial skeletal defects: Development and potential to improve decision support in chemical safety assessment. 12th World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences (WC12) (Niagara Falls, August 30, 2023)
8. 山田隆志： 次世代リスク評価の信頼性構築へ向けた New Approach Methodology の活用の課題. 第 50 回日本毒性学会学術年会 (横浜, 2023.6.19）
9. 山本 繁史, 明関 由里子, 吉田 喜久雄, 山田 隆志： 生理学的薬物動力学（PBK）モデリングを用いた環境化学物質のトキシコキネティクス予測のためのデータベースの構築. 第 50 回日本毒性学会学術年会 (横浜, 2023.6.21）
10. 勝谷成男, 山田隆志, 広瀬明彦, Emma Hill, Adrian Fowkes, Susanne A. Stalford, Alun Myden： ヒストン脱アセチル化酵素阻害から発生毒性につながる AOP の開発. 第 50 回日本毒性学会学術年会 (横浜, 2023.6.21）
11. 丸山(鳶田)多恵子、山添康、齊藤亮子、山田隆志： 試験データベース解析に基づく肝毒性関連情報の抽出―予測精度向上を目指して. 第 50 回日本毒性学会学術年会 (横浜, 2023.6.21）
12. 山田隆志, 大畑秀雄, 古濱綾子, 杉山圭一, 本間正充, 瀬川勝智, 相崎健一, 広瀬明彦, 増村健一： 行政における化学物質リスク評価を支援する AI を用いた安全性予測プラットフォームの開発. 第 50 回日本毒性学会学術年会 (横浜, 2023.6.21）
13. 広瀬明彦： "ペル及びポリフルオロ化合物(PFAS）の環境曝露によるリスク評価の現状と課題. " 第 50 回日本毒性学会学術年会 (2023.6.19-6.21, 横浜）
14. 広瀬明彦： Extractables と Leachables の毒性評価の考え方. 第 50 回日本毒性学会学術年会 (2023.6.19-6.21, 横浜）
15. 村田康允、重田善之、磯貴子、馬野高昭、広瀬望、長谷川彩由香、堀端克良、杉山圭

一、広瀬明彦、増村健一、松本真理子：トランスジェニックマウスを用いた tert-ブチルヒドロペルオキシドの遺伝子突然変異試験． 第 50 回日本毒性学会学術年会 (2023.6.19-6.21, 横浜)

16. Iso T, Murata Y, Hirose N, Umano T, Shigeta Y, Hasegawa S, Horibata K, Mutsuga M, Sugiyama K, Hirose A, Masumura K, Matsumoto M. : Evaluation of the in vivo mutagenicity of azodicarbonamide. 第 50 回日本毒性学会学術年会 (2023.6.19-6.21, 横浜)
17. Akahori Y., Ishida K., Ohno F., Hirose A. : Possibility for Liver Toxicity Evaluation by Gene Set Enrichment Analysis (GSEA) using Key Event-Specific Gene Sets Applying Gene Expression Data Obtained in Rat Primary Hepatocytes. EUROTOX 2023 (2023.9.10 - 13, Ljubljana)
18. Hayashi T, Kotaki A, Fukushima A, Kawamura T, Katsutani N, Yamada T, Hirose A. : Development of modifying factor for exposure route extrapolation from oral TTC to parenteral TTC. EUROTOX 2023 (2023.9.10 - 13, Ljubljana)
19. Murata Y, Matsumoto M, Hirose N, Iso T, Shigeta Y, Hasegawa S, Umano T, Horibata K, Sugiyama K, Inoue K, Hirose A, Masumura K : In vivo mutagenicity assessment and derivation of oral and inhalation hazard assessment values of styrene. EUROTOX 2023 (2023.9.10 - 13, Ljubljana)
20. Matsumoto M, Murata Y, Hirose N, Iso T, Shigeta Y, Hasegawa S, Umano T, Hirose A : Derivation of a target value of acrylic acid in drinking water. EUROTOX 2023 (2023.9.10 - 13, Ljubljana)
21. Hirose A, Shigeta Y., Kawamura T., Inoue K., Matsumoto M : Comparison of BMDL calculation performance by the recently developed Bayesian BMD calculation tools using quantal datasets of animal toxicity studies. EUROTOX 2023 (2023.9.10 - 13, Ljubljana)
22. 松本 真理子, 広瀬 望, 磯 貴子, 村田 康允, 重田 善之, 長谷川 彩由香, 馬野 高昭, 広瀬 明彦 : Derivation of a target value of perfluorooctanesulfonic acid in drinking water. 第 50 回日本毒性学会学術年会 (2023.6.19-6.21, 横浜)
23. Linfeng Liu, Mayu Onishi, Yuka Yoshii, Kaori Ambe, Toshiaki Makino, Masahiro Tohkin : Efficacy and safety of new class disease-modifying anti-rheumatic drugs: Bayesian and frequentist network meta-analysis. 日本薬学会第 144 年会 (2024.3.28 – 3.31, 横浜)
24. 安部 賀央里, 木下 啓, 山田 隆志, 足利 太可雄, 頭金 正博： 皮膚感作性評価における in silico 予測モデルの開発. 第 10 回 CBI 学会個別化医療研究会 (2024.2.27, 岐阜)
25. 青木 優佳, 安部 賀央里, 頭金 正博, 村島 美穂, 濱野 高行, 和知野 千春, 木村 和哲, 日比 陽子, 近藤 勝弘： 電子カルテ情報と機械学習を活用したシスプラチン誘発性急性腎障害の予測モデルの構築. 第 44 回日本臨床薬理学会学術総会 (2023.12.14 - 12.16, 神戸)
26. Linfeng Liu, Mayu Ohnishi, Yuka Yoshii, Kaori Ambe, Masahiro Tohkin : Comparison of the efficacy and safety of various anti-rheumatic drugs for rheumatoid arthritis: Network Meta-Analysis. 第 44 回日本臨床薬理学会学術総会 (2023.12.14 - 12.16, 神戸)
27. 徳永 朱莉, 安部 賀央里, 山田 隆志, 足利 太可雄, 頭金 正博： 過小評価の回避を指向した皮膚感作性強度を予測する機械学習モデルの開発. 日本動物実験代替法学会 第 36 回大会 (2023.11.27 - 11.29, 千葉)
28. 青木 優佳, 安部 賀央里, 頭金 正博, 村島 美穂,

濱野 高行： 悪性腫瘍患者における化学療法中の低 Na 血症を予測する機械学習モデルの構築およびリスク因子の検討. 第 33 回日本医療薬学会年会 （2023.11.3 - 11.5, 仙台）

29. 大西 真由, 劉 臨風, 吉井 優花, 安部 賀央里, 頭金 正博： ネットワークメタアナリシスによる新規抗リウマチ薬の有効性と安全性の比較検討. 第 33 回日本医療薬学会年会 （2023.11.3 - 11.5, 仙台）

30. 木下啓, 安部 賀央里, 山田 隆志, 足利 太可雄, 頭金 正博： Establishment of in silico prediction model for skin sensitization aiming for practical application. CBI 学会 2023 年大会 (2023.10.23 - 10.26, 東京）

31. Tamana Enami, Kaori Ambe, Masahiro Tohkin： Development of a model for predicting a chemical-induced CYP inhibitory activity using images data showing chemical structure information. 2023 年 ICCP450/JSSX 国際合同大会 (2023.9.25 - 9.29, 静岡）

32. 出来 佑都, 安部 賀央里, 頭金 正博, 和知野 千春, 木村 和哲, 日比 陽子, 近藤 勝弘, 村島 美穂, 濱野 高行： 電子カルテ情報と機械学習を用いたバンコマイシン誘発性急性腎障害の予測手法開発. 第 9 回次世代を担う若手のためのレギュラトリーサイエンスフォーラム (2023.9.16, 東京）

33. 濱上 敦史, 土井 更良, 安部 賀央里, 頭金 正博： 副作用報告データベースとトランスポーター阻害活性情報を用いた機械学習による胆汁うっ滞型薬物性肝障害の予測モデルの開発. 第 69 回日本薬学会東海支部大会 （2023.7.8, 名古屋）

34. 足利 太可雄, 波多野 浩太, 岩佐 帆乃夏, 木下 啓, 中村 伸昭, 安部 賀央里, 頭金 正博： Next Generation Risk Assessment 事例研究: ヘアカラー製剤に存在するバンドロフスキーベースの定量的皮膚感作性リスク評価. 第 48 回日本香粧品学会 （2023.6.23 - 6.24, 東京-Online Hybrid）

35. 安部 賀央里： データベースと機械学習を活用した毒性予測へのアプローチ～有機化学から視野を広げて～　シンポジウム２９ トキシコロジストのキャリア形成支援プログラム: デジタル時代の人材育成と教育. 第 50 回日本毒性学会学術年会 (2023.6.19 – 6.21, 横浜）

36. 木下 啓, 安部 賀央里, 山田 隆志, 足利 太可雄, 頭金 正博： 機械学習を用いた皮膚感作性強度予測モデルの開発と実用化に向けた検討. 第 50 回日本毒性学会学術年会 (2023.6.19 – 6.21, 横浜）

37. Linfeng Liu, Mayu Ohnishi, Yuka Yoshii, Kaori Ambe, Masahiro Tohkin： Efficacy and Safety of Anti-rheumatic Drugs in Patients with Rheumatoid Arthritis: Bayesian Network Meta-Analysis. 第 50 回日本毒性学会学術年会 (2023.6.19 – 6.21, 横浜）

38. 大西 真由, 劉 臨風, 吉井 優花, 安部 賀央里, 頭金 正博： 新規抗リウマチ薬の有効性と安全性に関する研究－ネットワークメタ解析手法を用いた検討－. 第 7 回日本臨床薬理学会東海北陸地方会 (2023.6.4, オンライン）

39. 古濱 彩子, 杉山 圭一, 本間 正充： 大規模変異原性データを用いた第二回 Ames/QSAR 国際チャレンジプロジェクト. 構造活性相関フォーラム 2022 (2022.6.3, Online）

40. Furuhama A, Sugiyama K, Honma M： Overview of Outcomes of 2nd Ames/QSAR Project. International Conference on Environmental Mutagens (ICEM) 2022 (2022.8.27, Ottawa)

41. Morita T, Furuhama A, Sugiyama K： Contraception of Genotoxic Pharmaceuticals in Japanese Market. ICEM 2022 (2022.8.29, Ottawa)

42. 古濱 彩子, 杉山 圭一, 本間 正充： 物質の芳香族並びに環状 N －ニトロソ化合物の Ames 変異原性の探求. 日本環境変異原ゲノム学会第 51 回大会 (2022.11.15, 広島）
43. Honma M： International QSAR Challenge for Mutagenicity. Prediction of Mutagenicity by in silico Tools. 62nd SOT Annual Meeting (2023.3.23, Nashville, USA)
44. Yamada T, Meiseki Y, Watanabe-Matsumoto S, Yamamoto S, Katsutani N, Yoshida K： Constructing a database of parameters for physiologically based kinetic modeling to predict toxicokinetics of inhalation exposure to industrial chemicals. Society of Toxicology 62nd Annual Meeting (2023.3.21, Nashville)
45. 山田 隆志： 次世代リスクアセスメント（NGRA）のケーススタディの開発と行政受入へ向けた考慮事項. 日本動物実験代替法学会第 35 回大会 (2022.11.20, 静岡)
46. 山田 隆志, 辻井 伸治, 三浦 稔, 齊藤 亮子, 川村 智子, 丸山 多恵子, 勝谷 成男, 広瀬 明彦： IATA による化学物質の神経毒性評価を補完する in silico アプローチ: 神経毒性に関連する部分構造と物理化学的および生化学的パラメータを用いたカテゴリーの精緻化. 日本動物実験代替法学会第 35 回大会 (2022.11.19, 静岡)
47. Yamada T, Tsujii S, Miura M, Saito A, Kawamura T, Maruyama T, Katsutani N, Hirose A： In silico approach that supports neurotoxicity assessment of chemical substances by IATA: Refining categories by using substructures and physicochemical and biochemical parameters related to neurotoxicity. 11th Annual Meeting of the American Society for Cellular and Computational Toxicology (2022.10.20, Chapel Hill)
48. 山田 隆志： ヒト用医薬品の環境リスク評価を支援する生態毒性データベースと予測の不確実性を考慮した in silico アプローチの開発. 第 49 回日本毒性学会学術年会 (2022.7.2, 札幌)
49. 山田 隆志, 勝谷 成男, 丸山 多恵子, 村山 典恵, 山崎 浩史, 山添 康, 広瀬 明彦： ピロリジジンアルカロイドの肝毒性評価への New Approach Method (NAM）の適用. 第 49 回日本毒性学会学術年会 (2022.7.1, 札幌)
50. 勝谷 成男, 山田 隆志, 村山 典恵, 山崎 浩史, 山添 康, 広瀬 明彦： 食品中に含まれるクマリンの肝毒性リスク評価についての in silico アプローチ. 第 49 回日本毒性学会学術年会 (2022.6.30, 札幌)
51. 広瀬明彦： ニトロソアミン不純物の発がんリスク. ICH M7/QSAR ワークショップ（日本環境変異原ゲノム学会 第 51 回大会のサテライトミーティング） (2022.10.21, 東京 Online Hybrid）
52. 田邊 思帆里, カデール サビーナ, 小野 竜一, カブラル オラシオ, 青柳 一彦, 広瀬 明彦, Edward J PERKINS, 横崎 宏, 佐々木 博己： 治療抵抗性胃がんに関する Adverse Outcome Pathway (AOP；有害性発現経路) の開発. 第 49 回日本毒性学会学術年会 (2022.6.30-7.2, 札幌）
53. 小野 竜一, 山本 雄介, 成瀬 美衣, 田邊 思帆里, 吉岡 祐亮, 相崎 健一, 広瀬 明彦, 落谷 孝広, 平林 容子、北嶋 聡： cfDNA による毒性評価. 第 49 回日本毒性学会学術年会 (2022.6.30-7.2, 札幌）
54. 大野 彰子, 沖山 佳生, 広瀬 明彦, 福原 潔： 3 ニトロ多環芳香族炭化水素の変異原性: ニトロ基の付加位置に関する in silico 解析. 第 49 回日本毒性学会学術年会 (2022.6.30-7.2, 札幌）
55. 牛田 和夫, 井上 薫, 甲斐 薫, 山下 ルシア幸子, 鈴木 洋, 広瀬 明彦： 化審法のリスク評価

（一次）評価Iでの発がん性定量的評価のために求められる変異原性評価のあり方: 閾値の有無に関する再検討. 第49回日本毒性学会学術年会 (2022.6.30-7.2, 札幌)

56. 井上 薫, 鈴木 洋, 橋本 清弘, 三島 雅之, 古濱 彩子, 杉山 圭一, 広瀬 明彦： 微量変異原性不純物として検出されたニトロソアミン類の変異原性及び発がん性ポテンシャルに応じた管理のための条件の検索. 第49回日本毒性学会学術年会 (2022.6.30-7.2, 札幌)
57. Matsumoto M, Murata Y, Hirose N, Iso T, Shigeta Y, Umano T, Hirose A： Derivation of a target value of 1,3-butadiene, a possible contaminant, in drinking water. ICT/EUROTOX2022 (2022.9.18-21)
58. 松本 真理子, 広瀬 望, 磯 貴子, 村田 康允, 重田 善之, 馬野 高昭, 広瀬 明彦： Derivation of a target value of perfluorooctanoic acid in drinking water. 第49回日本毒性学会学術年会 (2022.6.30-7.2)
59. 磯 貴子, 村田 康允, 重田 善之, 広瀬 望, 馬野 高昭, 堀端 克良, 増村 健一, 杉山 圭一, 松本 真理子, 広瀬 明彦： Evaluation of the in vivo mutagenicity of Carbendazim. 第49回日本毒性学会学術年会 (2022.6.30-7.2)
60. 村田 康允, 磯 貴子, 重田 善之, 広瀬 望, 馬野 高昭, 堀端 克良, 増村 健一, 杉山 圭一, 松本 真理子, 広瀬 明彦： The gene mutation test of styrene using the transgenic mouse. 第49回日本毒性学会学術年会 (2022.6.30-7.2)
61. 重田 善之, 広瀬 望, 磯 貴子, 村田 康允, 馬野 高昭, 松本 真理子, 広瀬 明彦： GHS classification study of substances that caused occupational accident. 第49回日本毒性学会学術年会 (2022.6.30-7.2)
62. 松本 真理子： ②ヒト健康の視点から 水道水汚染化学物質のリスク評価. 環境化学物質系３学会合同大会（第30回環境化学討論会、第24回環境ホルモン学会研究発表会、第26回日本環境毒性学会研究発表会）(2022/6/15, 富山) (招待講演)
63. 濱上 敦史, 土井 更良, 安部 賀央里, 頭金 正博： JAPIC AERS と機械学習を活用した胆汁うっ滞型薬物性肝障害の予測モデルの開発. 日本薬学会第143年会 （2023.3.25 – 3.28, 札幌）
64. Kaori Ambe： Development of in silico model for skin sensitization evaluation using machine learning. ACAAE2022 the 3rd Asian Congress for Alternatives to Animal Experiments (2022.12.14-12.16, 韓国 済州島 - Online Hybrid)
65. 片山 早紀, 安部 賀央里, 頭金 正博： 化学構造情報と in vitro 情報を使用した特異体質性薬物性肝障害の予測手法の開発. 第5回医薬品毒性機序研究会 （2022.12.8-12.9, 東京）
66. 渡邊 崇, 安部 賀央里, 頭金 正博： 機械学習を用いた添付文書への重大な副作用の追記予測. 第43回日本臨床薬理学会学術総会 （2022.11.30-12.3, 横浜）
67. 大西 真由, 吉井 優花, 劉 臨風, 安部 賀央里, 頭金 正博： 臨床試験データを用いた生物学的製剤および JAK 阻害薬のメトトレキサート併用療法における有効性と安全性に関する研究. 第43回日本臨床薬理学会学術総会 (2022.11.30-12.3, 横浜)
68. 木下 啓, 安部 賀央里, 足利 太可雄, 頭金 正博： 皮膚感作性評価における in vitro 試験法の効率化を目指した機械学習モデルの開発. 日本動物実験代替法学会 第35回大会 (2022.11.18-11.20, 静岡)
69. 伊藤 潤, 安部 賀央里, 足利 太可雄, 頭金 正博： 化学構造情報からヒトの皮膚感作性を予測する機械学習モデルの開発. 日本動物実験代替法学会 第35回大会 (2022.11.18-11.20, 静岡)

70. 榎波 多眞奈, 安部 賀央里, 頭金 正博： 化学構造の画像認識技術を用いた機械学習による CYP3A4 阻害活性の予測モデルの開発. 日本薬物動態学会第 37 回年会 (2022.11.8-11.10, 横浜)
71. 土井 更良, 安部 賀央里, 頭金 正博： Prediction of drug-induced liver injury in silico using large-scale adverse event database. CBI 学会 2022 年大会 (2022.10.25-10.27, 東京)
72. 吉井 優花, 大西 真由, 秋田 彩佑, 安部 賀央里, 頭金 正博： 臨床試験データを用いた疾患修飾性抗リウマチ薬とメトトレキサート併用時の有効性と安全性の解析. 第 32 回日本医療薬学会年会 （2022.9.23-9.25, 群馬・ハイブリッド）
73. 青木 優佳, 安部 賀央里, 村島 美穂, 濱野 高行, 頭金 正博： 低 Na 血症の発症を予測する機械学習モデルの構築. 第 8 回次世代を担う若手のためのレギュラトリーサイエンスフォーラム (2022.8.26, 東京)
74. 木下 啓, 安部 賀央里, 足利 太可雄, 頭金 正博： 皮膚感作性の in vitro 試験法である KeratinoSensTM の結果を予測する機械学習モデルの構築. 第 8 回次世代を担う若手のためのレギュラトリーサイエンスフォーラム (2022.8.26, 東京)
75. 吉井 優花, 大西 真由, 秋田 彩佑, 安部 賀央里、頭金 正博： 臨床試験データを用いた疾患修飾性抗リウマチ薬（DMARDs）の安全性の研究. 第 6 回日本臨床薬理学会東海北陸地方会 (2022.7.30, オンライン)
76. 村崎 亘, 安部 賀央里, 頭金 正博、山田 隆志、足利 太可雄： 機械学習アプローチによる皮膚感作性強度を予測する回帰モデルの開発. 第 49 回日本毒性学会学術年会 (2022.6.30-7.2, 札幌)
77. 安部 賀央里： ヒトの副作用予測に向けた機械学習アプローチ. シンポジウム 13 「計算機科学を活用したヒトの有害事象研究の現状と展望」. 第 49 回日本毒性学会学術年会 (2022.6.30-7.2, 札幌)
78. 土井 更良, 安部 賀央里, 頭金 正博： FAERS を用いた機械学習による薬物性肝障害の予測モデルの開発. 第 49 回日本毒性学会学術年会 (2022.6.30-7.2, 札幌)
79. 安部 賀央里, 成田 和人, 小林 睦, 立花 滋博, 村崎 亘, 鈴木 政晴, 頭金 正博, 足利 太可雄： 機械学習アプローチを用いた in silico モデルによるヘアカラー原料の皮膚感作性強度予測. 第 47 回日本香粧品学会 （2022.6.10-6.11, 東京-Online Hybrid）
80. 古濱 彩子： 遺伝毒性評価における in silico 解析について. 第 19 回食品安全フォーラム (2021.12.10, 東京)
81. 杉山 圭一： 食品用器具・容器包装のポジティブリスト制度における遺伝毒性評価の概要. 第 19 回食品安全フォーラム (2021.12.10, 東京)
82. 古濱 彩子, 杉山 圭一, 本間 正充： 毒性予測活用への取り組み: 第 2 回 Ames/QSAR 国際チャレンジプロジェクト. CBI 学会 2021 年大会 (2021.10.27, Online)
83. Furuhama A： Bigdata Analysis: Outcome of the 2nd AMES/QSAR International Challenge Project . 11th Annual Global Summit on Regulatory Science (GSRS21) (2021.10.5, Online)
84. 古濱 彩子, 杉山 圭一, 本間 正充： Ames/QSAR の必要性・具体例と国内外のインシリコ研究. 第 48 回日本毒性学会学術年会 (2021.7.7, 神戸-Online Hybrid)
85. 山田 隆志： New Approach Method (NAM) の活用に基づく化学物質の統合的ヒト健康リスク評価系の構築へ向けた事例研究の開発. 日本動物実験代替法学会第 34 回大会 （2021.11.11, 沖縄-Online Hybrid）

86. 山田 隆志： 化学物質リスク評価に資する in silico アプローチの改良と国内における行政的受け入れ拡大への取り組み． 日本動物実験代替法学会第 34 回大会 （2021.11.11, 沖縄-Online Hybrid）
87. Yamada T： Development and Improvement of in silico approaches for accelerating regulatory chemical risk assessment. The 9th congress of AsiaToxIV (2021.10.21, Hangzhou-Online Hybrid)
88. Yamada T, Kawamura T, Tsujii S, Ohata H, Matsumoto M, Katsutani N, Hirose A： Development of mechanism-based hematotoxicity categories for read-across assessment using an integrated toxicity database of chemical substances. 11th World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences (2021.8.27, Online)
89. 川村 智子, 山田 隆志, 辻井 伸治, 大畑 秀雄, 勝谷 成男, 広瀬 明彦： リードアクロス評価のためのメカニズムに基づく血液毒性カテゴリーの開発と精緻化－統合毒性データベースを利用した事例－． 第 48 回日本毒性学会学術年会 (2021.7.7-7.9, 神戸-Online Hybrid）
90. 山田 隆志, 栗本 雅之, 広瀬 明彦, Chihae Yang, James F Rathman： 化学物質の非発がんエンドポイントの TTC アプローチのための新しいデータベースの開発． 第 48 回日本毒性学会学術年会 (2021.7.7, 神戸-Online Hybrid）
91. Yamada T： Improvement of QSAR and Read-across for chemical risk assessment and efforts toward regulatory acceptance in Japan. 2021 Korean Society of Toxicology (KSOT)/ Korean Environmental Mutagen Society (KEMS) Toxicology Workshop & Spring International Symposium (2021.5.31, Online)
92. Ohno A, Watanabe M, Hirose A： Application to toxicity evaluation of ilicone dioxide nanoparticles based on physicochemical properties using multivariate analysis method. The international chemical congress of PACIFIC BASIN SOCIETIES 2021 (2021.12.16- 21, Online)
93. 広瀬 明彦： ニトロソアミン曝露許容値設定の考え方． ICH M7/QSAR ワークショップ 日本環境変異原ゲノム学会 第 50 回記念大会 (2021.10.29, Online)
94. 広瀬 明彦： BMD 法の基礎、活用の歴史について． 哺乳動物試験研究会（JEMS・MMS 研究会）第 79 回定例会 （2021.10.11, Online）
95. Ohno A, Okiyama Y, Hirose A, Fukuhara K： Docking study on the position of nitro groups affecting the mutagenicity of nitroarenes. 262nd ACS National Meeting & Exposition (2021.8.22- 26, Online)
96. 広瀬 明彦： 行政利用を目的とした定量的有害性評価手法の開発． 第 48 回日本毒性学会学術年会 (2021.7.7-7.9, 神戸-Online Hybrid）
97. 田邊 思帆里, Sabina QUADER, 小野 竜一, Horacio CABRAL, 青柳 一彦, 広瀬 明彦, Ed PERKINS , 横崎 宏, 佐々木 博己： 慢性的活性酸素種からヒト治療耐性胃がんへ至る有害性発現経路の開発及び分子ネットワーク解析． 第 48 回日本毒性学会学術年会 (2021.7.7-7.9, 神戸-Online Hybrid）
98. Ohno A, Watanabe M, Hirose A： ナノマテリアルの物理化学的性状に基づく毒性評価手法への応用． 第 48 回日本毒性学会学術年会 (2021.7.7-7.9, 神戸-Online Hybrid）
99. 井上 薫, 牛田 和夫, 甲斐 薫, 鈴木 洋, 川島 明, 松本 真理子, 山田 隆志, 広瀬 明彦： リスク評価の優先順位付けのための発がん性定量評価における各種毒性指標の適用について． 第 48 回日本毒性学会学術年会 (2021.7.7-7.9,

神戸-Online Hybrid）

100. 川島 明, 井上 薫, 吉崎 芳郎, 牛田 和夫, 甲斐 薫, 鈴木 洋, 松本 真理子, 山田 隆志, 広瀬 明彦： ラットを用いた 3-メチルペンタン、イソオクタン、イソノナンの反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験． 第 48 回日本毒性学会学術年会 (2021.7.7-7.9, 神戸-Online Hybrid）

101. Matsumoto M, Murata Y, Hirose N, Shigeta Y, Iso T, Hirose A： Hazard assessment of disinfection by-products, bromo chloroacetic acid and bromo dichloroacetic acid, in drinking water. EUROTOX 2021 (2021.9.27- 10.1, Online)

102. 磯 貴子, 村田 康允, 重田 善之, 広瀬 望, 堀端 克良, 増村 健一, 杉山 圭一, 松本 真理子, 広瀬 明彦： 食品用器具・容器包装のポジティブリスト収載物質「4，4'－オキシビス(ベンゼンスルホノヒドラジド)」の遺伝毒性評価. 第 48 回日本毒性学会学術年会 (2021.7.7-7.9, 神戸-Online Hybrid）

103. 村田 康允, 重田 善之, 磯 貴子, 広瀬 望, 松本 真理子, 広瀬 明彦： 水道水要検討項目「ブロモジクロロ酢酸」の有害性評価． 第 48 回日本毒性学会学術年会 (2021.7.7 - 7.9, 神戸-Online Hybrid）

104. 伊藤潤, 安部賀央里, 足利太可雄, 頭金正博： ヒト皮膚感作性データを用いた機械学習による in silico 予測モデルの開発． 日本薬学会第 142 年会 （2022 年 3 月 Online）

105. 家田 維哉, 安部 賀央里, 頭金 正博： 医薬品副作用自発報告データベースを用いたアンサンブル機械学習モデルによる薬剤性急性腎障害の予測． 第 42 回日本臨床薬理学会学術総会 (2021 年 12 月 仙台-Online Hybrid）

106. 土井 更良, 安部 賀央里, 頭金 正博： 機械学習による薬物性肝障害の予測～大規模副作用報告データベースの活用～． 第 42 回日本臨床薬理学会学術総会 (2021 年 12 月 仙台-Online Hybrid）

107. 安部 賀央里： 機械学習法による特異体質性副作用の予測．シンポジウム 臨床薬理学と人工知能． 第 42 回日本臨床薬理学会学術総会 (2021 年 12 月 仙台-Online Hybrid）

108. 秋田 彩佑, 魏 捷, 安部 賀央里, 頭金 正博： 既存の臨床試験データを用いた直接経口抗凝固薬の有効性と安全性に関する民族差の検討. 第 31 回日本医療薬学会年会 （2021 年 11 月 Online) Young Investigator Award

109. 東野 竜空, 中森 瑞季, 安部 賀央里, 頭金 正博, 佐々木 崇光, 吉成 浩一： 機械学習によるラット薬物代謝酵素および胆汁酸トランスポーターの阻害活性予測モデルの開発． 日本動物実験代替法学会第 34 回大会 （2021 年 11 月 Online)

110. 安部 賀央里： 化学物質の安全性評価における in silico 予測モデル．フォーカストセッション FS-07 創薬における WET 研究者と計算毒性学とのコラボレーション、 および最新の安全性評価研究と Ames/QSAR 国際チャレンジプログラム． CBI 学会 2021 年大会 (2021 年 10 月 Online)

111. Saki Katayama, Sarara Doi, Takayuki Tachiki, Kaori Ambe, Masahiro Tohkin, Toshimasa Jindo： Development of in silico prediction method for idiosyncratic drug-induced liver injury. CBI 学会 2021 年大会 (2021 年 10 月 Online)

112. 安部 賀央里： 毒性データベースを用いた化学物質のインシリコ毒性予測．シンポジウム S5: 計算機科学が拓く薬学の未来． 第 65 回日本薬学会関東支部大会 （2021 年 9 月 Online)

113. 片山 早紀, 土井 更良, 立木 孝幸, 安部 賀央里, 頭金 正博： in vitro 試験情報を利用した薬物性肝障害の in silico 予測手法の開発． 第 48

回日本毒性学会学術年会 (2021 年 7 月 神戸-Online Hybrid)

114. 中森 瑞季, 東野 竜空, 安部 賀央里, 頭金 正博, 佐々木 崇光, 吉成 浩一： 機械学習を用いた薬物代謝酵素阻害活性の in silico 予測手法の開発． 第 48 回日本毒性学会学術年会 (2021 年 7 月 神戸-Online Hybrid)

115. 吉井 優花, 秋田 彩佑, 安部 賀央里, 頭金 正博： 臨床試験データを用いた疾患修飾性抗リウマチ薬とメトトレキサート併用時の有効性と安全性に関する研究． 医療薬学フォーラム 2021 (2021 年 7 月 Online)

116. 家田 維哉, 安部 賀央里, 頭金 正博： 医薬品副作用自発報告データベースを用いた機械学習による薬剤性急性腎障害の予測手法の開発． 医療薬学フォーラム 2021 (2021 年 7 月 Online)

117. 佐々木 裕, 三輪 誠, 安部 賀央里, 頭金 正博： 組み込み・除外判定を機械読解により実現した系統的レビュー． 第 248 回自然言語処理研究会・第 226 回コンピュータビジョンとイメージメディア合同研究発表会 (2021 年 5 月 Online)

3．シンポジウム/講習会/Work Groupでの発表

1. Furuhama A, Maruyama-Komoda T, Yamada T, Sugiyama K, Honma M: Evaluating Ames mutagenicity predictions for 1,3,5-tris(2,3-dibromopropyl)-1,3,5-triazinane-2,4,6-trione under the OECD QSAR Assessment Framework. (OECD 20th Meeting of the QSAR Toolbox Management Group, Paris, 2023.11.17).

2. Yamada T: Development and application of toxicity databases for improvement of *in silico* approaches for regulatory chemical safety assessment. (OECD 20th Meeting of the QSAR Toolbox Management Group, Boulogne, France, 2023.11.17).

3. 山田隆志：ヒト健康影響に関連した QSAR とリードアクロス. 令和 5 年度 QSAR／リードアクロス講習会, 独立行政法人製品評価技術基盤機構 化学物質管理センター主催, 環境省 大臣官房環境保健部後援 (2023.10.11, 東京-Online)

4. 山田隆志: *In silico* 予測手法の高度化と New Approach Methodology の活用に基づくヒト健康リスク評価の効率化・迅速化を目指して. シンポジウム [リスク評価手法の現状と今後], 2023 年 日化協 LRI 研究報告会 (東京, 2023.8.25)

5. 山田 隆志：ヒト健康影響に係る化学物質安全性データベースの開発および情報科学技術の導入によるリスク評価の迅速化へ向けた課題. 化学物質の安全管理に関するシンポジウム－Society 5.0 実現に向けた化学物質管理に係るデータ利活用の推進－, 化学物質の安全管理に関するシンポジウム実行委員会主催, 内閣府等共催 (2022.12.21, Online)

6. Yamada T, Maruyama-Komoda T, Furuhama A. QSAR evaluation trial based on the checklist -Case study on prediction of Ames mutagenicity using two QSAR models-, OECD Meeting of the QSAR Assessment Framework Working Group (2022.11.15, Paris)

7. 山田 隆志：ヒト健康影響に関連した QSAR とリードアクロス. 令和 4 年度 QSAR／リードアクロス講習会, 独立行政法人製品評価技術基盤機構 化学物質管理センター主催, 環境省 大臣官房環境保健部後援 (2022.10.17, Online)

8. Yamada T, Read-across case studies for repeated-dose toxicity of chemicals: Lessons learned from the OECD IATA case studies project. The 9th European Food Safety Authority (EFSA) Read-across Work Group Meeting. (2022.9.28, Parma-Online Hybrid)

4. ガイダンス作成

1. (Q)SAR Assessment Framework: Guidance for the regulatory assessment of (Quantitative) Structure − Activity Relationship models, predictions, and results based on multiple predictions. OECD Series on Testing and Assessment. No. 386, https://one.oecd.org/document/ENV/CBC/MONO(2023)32/en/pdf,（イタリア Istituto Superiore di Sanità（ISS）と欧州化学品庁（ECHA）の共同リードのもと、OECD メンバー国の QSAR 専門家が本ガイダンス作成プロジェクトに参加。本研究班からは、山田隆志および古濱彩子が本ガイダンス作成に貢献）

H．知的所有権の取得状況

1．特許取得
　なし

2．実用新案登録
　なし

3．その他
　なし

別添４

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書　籍　名	出版社名	出版地	出版年	ページ
Furuhama A, Kasamatsu T, Sugiyama K, Honma M	Curation of more than 10,000 Ames Test Data Used in the Ames/QSAR International Challenge Projects	Huixiao Hong	QSAR in Safety Evaluation and Risk Assessment	(Elsevier) Academic Press.		2023	365-372
山田隆志	第I編 総論 第2章 Next Generation Risk Assessmentの現状と行政利用へ向けた課題	監修：小島肇夫	動物実験代替法とNew Approach Methodsの開発・利用動向	シーエムシー出版	東京	2023	7-13
安部賀央里	第V編 香粧品業界 第4章　皮膚感作性*in silico*予測モデル	監修：小島肇夫	動物実験代替法とNew Approach Methodologiesの開発・利用動向	シーエムシー出版	日本	2023	193-200

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Furuhama A, …, Sugiyama K, Honma M.	Evaluation of QSAR models for predicting mutagenicity: outcome of the Second Ames/QSAR international challenge project	*SAR QSAR Environ. Res*	34巻 12号	983-1001	2023
山田隆志, 丸山（篤田）多恵子.	化学物質のヒト健康影響評価に資するリードアクロス -行政リスク評価への適用を目指して-	*CICSJ Bulletin*	Vol.41, No.1	6-10	2023
Myden A, Stalford SA, Fowkes A, White E, Hirose A, Yamada T.	Enhancing developmental and reproductive toxicity knowledge: A new AOP stemming from glutathione depletion.	*Curr Res Toxicol.*	Vol.5	100124	2023
Yamazoe Y, Murayama N, Kawamura T, Yamada T.	Application of fused-grid-based CYP-Template systems for genotoxic substances to understand the metabolisms.	*Genes Environ.*	45(1)	22	2023
Matsumoto M, Murata Y, Hirose N, Shigeta Y, Iso T, Umano T, Hirose A.	Derivation of subacute guidance values for chemical contaminants of drinking water quality standard in Japan.	*Regul Toxicol Pharmacol.*	141	105401	2023
Murata Y, Natsume M,	In vivo mutagenicity	*Genes Environ.*	45(1)	12	2023

Iso T, Shigeta Y, Hirose N, Umano T, Horibata K, Sugiyama KI, Masumura K, Hirose A, Matsumoto M.	assessment of styrene in MutaMouse liver and lung.				
Hirose N, Umano T, Murata Y, Iso T, Hasegawa S, Inoue K, Yamada T, Masumura K, Matsumoto M.	Summary information of human health hazard assessment of existing chemical substances (IX).	*Bull. Natl Inst. Haelth Sci.*	141	61-68	2023
Murata Y, Suzuki K, Shigeta Y, Iso T, Hirose N, Umano T, Horibata K, Sugiyama K, Hirose A, Masumura K, Matsumoto M.	In vivo mutagenicity assessment of orally treated tert-butyl hydroperoxide in the liver and glandular stomach of MutaMouse.	*Genes Environ.*	45(1)	29	2023
安部賀央里.	皮膚感作性強度の予測に向けた機械学習による *in silico* アプローチ.	*フレグランスジャーナル*	7	16-20	2023
安部賀央里.	機械学習を用いた皮膚感作性試験代替法の開発	*コスメティックステージ*	2 月号	60-65	2023
Ashikaga T, Narita K, Kobayashi M, Tachibana S, Murasaki W, Suzuki M, Ambe K, Tohkin M.	Skin sensitization potency prediction of ingredients in hair colorants using in silico models of machine learning.	*Journal of Japanese Cosmetic Science Society.*	47(1)	1-5	2023
Petkov PI, Ivanova H, Honma M, Yamada T, Morita T, Furuhama A, Kotov S, Kaloyanova E, Dimitrova G, Mekenyan O.	Differences between in vitro and in vivo genotoxicity due to metabolism: The role of kinetics.	*Comp. Toxicol.*	22	100222	2022
Murayama N, Yamada T, Yamazoe Y.	Application of CYP1A2-Template system to understand metabolic processes in the safety assessment.	*Food Safety*	10	129-139	2022
Yamada T, Kawamura T, Tsujii S, Miura M, Ohata H, Katsutani K, Matsumoto M, Hirose A.	Formation and evaluation of mechanism-based chemical categories for regulatory read-across assessment of repeated-dose toxicity: a case of hemolytic anemia.	*Regul. Toxicol. Pharmacol*	136	105275	2022
Yamada T, Katsutani K, Maruyama T, Kawamura T, Yamazaki H, Murayama N, Tong W, Yamazoe Y, Hirose A,	Combined risk assessment of food-derived coumarin with in silico approaches.	*Food Safety*	10	73-82	2022
Watanabe-Matsumoto S, Yoshida K, Meiseki Y, Ishida S, Hirose A, Yamada T.	A physiologically based kinetic modeling of ethyl tert-butyl ether in humans–An illustrative application of quantitative structure-	*J. Toxicol. Sci.*	47	77-87	2022

	property relationship and Monte Carlo simulation.				
Lee BM, Lee SH, Yamada T, Park S, Wang Y, Kim KB, Kwon S.	Read-across approaches: Current applications and regulatory acceptance in Korea, Japan, and China.	*J. Toxicol. Environ. Health. A..*	85	184-197.	2022
Tanabe S, Hirose A, Yamada T.	Adverse Outcome Pathway on histone deacetylase inhibition leading to testicular atrophy.	OECD Series on Adverse Outcome Pathways	No. 17.	1-65	2021
山田隆志.	Cefic LRI/ILSI Europe Joint Workshop での Carcinogen Dose Response Database for Threshold of Toxicological Concern（TTC）の概要ならびに TTC に関する近年の国際動向.	*イルシー*	150	4-12	2022
Ohno A, Okiyama Y, Hirose A, Fukuhara K.	The position of the nitro group affects the mutagenicity of nitroarenes.	*Toxicol Appl Pharmacol. 441, 115974, 2022.*	441	115974	2022
Anklam E, Bahl MI, Ball R, Beger RD, Cohen J, Fitzpatrick S, Girard P, Halamoda-Kenzaoui B, Hinton D, Hirose A, Hoeveler A, Honma M, Hugas M, Ishida S, Kass GE, Kojima H, Krefting I, Liachenko S, Liu Y, Masters S, Marx U, McCarthy T, Mercer T, Patri A, Pelaez C, Pirmohamed M, Platz S, Ribeiro AJ, Rodricks JV, Rusyn I, Salek RM, Schoonjans R, Silva P, Svendsen CN, Sumner S, Sung K, Tagle D, Tong L, Tong W, Eijnden-van-Raaij JVD, Vary N, Wang T, Waterton J, Wang M, Wen H, Wishart D, Yuan Y, Slikker W Jr.	Emerging technologies and their impact on regulatory science.	*Exp. Biol. Med. (Maywood) 2022, 247, 1-75.*	247	1-75	2022
Kawashima A, Inoue K, Ushika K, Kai K, Suzuki H, Matsumoto M, Masumura K, Hirose A.	Derivation of human health hazard assessment values for toluene under the Japanese Chemical Substances Control Law.	*Fundam. Toxicol. Sci.*	9(4)	123-133	2022
Murata Y, Umano T, Iso T, Shigeta Y, Hirose N, Inoue K, Yamada T, Masumura K, Matsumoto M.	Summary information of human health hazard assessment of existing chemical substances (VIII).	*Bull. Natl Inst. Haelth Sci.*	140	54-60	2022
Iso T, Natsume M,	Absence of in vivo	*Fundam.*	9(2)	31-36	2022

Murata Y, Shigeta Y, Hirose N, Umano T, Horibata K, Masumura K, Sugiyama K, Matsumoto M, Hirose A.	mutagenicity of 4,4'-oxybis(benzenesulfonohydrazide) in liver and glandular stomach of MutaTM mice.	*Toxicol. Sci.*			
Ambe K., Akita A., Wei J., Yoshii Y., Onishi M., Tohkin M.	Comparison of Efficacy and Safety of Direct Oral Anticoagulants and Warfarin between Patients in Asian and Non-Asian Regions: A Systematic Review and Meta-Regression Analysis.	*Clin Pharmacol Ther.*	113(6)	1240-1250.	2023
Kasamatsu T, Kitazawa A, Tajima S, Kaneko M, Sugiyama K, Yamada M, Yasui M, Masumura K, Horibata K, Honma M.	Development of a new quantitative structure–activity relationship model for predicting Ames mutagenicity of food flavor chemicals using StarDrop™ Auto-Modeller™.	*Genes and Environ.*	43	16	2021
Rovida C, Escher SE, Herzler M, Hougaard Bennekou S, Kamp H, Kroese, DE, Maslankiewicz L, Moné MJ, Patlewicz G, Sipes, N, van Aerts L, White A, Yamada T, van de Water B.	NAM-supported read-across: From case studies to regulatory guidance in safety assessment.	*ALTEX*	38(1)	140-150	2021
Yamazoe Y, Yamada T, Hirose A, Murayama N.	Deciphering Key Interactions of Ligands with CYP3A4-Template* system.	*Food Safety*	9(1)	10-21	2021
Yamada T, Kawamura T, Maruyama T, Kurimoto M, Yamamoto H, Katsutani N, Hirose A.	Quantitative structure-activity relationship and a category approach to support algal toxicity assessment of human pharmaceuticals.	*Fundam. Toxicol. Sci.*	8	195-204	2021
Yamada T, Miura M, Kawamura T, Ushida K, Inoue K, Kuwagata M, Katsutani N, Hirose A.	Constructing a developmental and reproductive toxicity database of chemicals (DART NIHS DB) for integrated approaches to testing and assessment.	*J. Toxicol. Sci.*	46	531-538	2021
Matsumoto M, Takano M, Takabe M, Yamaguchi N, Iso T, Shigeta Y, Murata Y, Hirose N, Inoue K, Hirose A.	Initial hazard assessment of ethyl(dimethyl)(tetradecyl)ammonium ethyl sulfate: Genotoxicity tests and combined repeated-dose and reproductive/developmental toxicity screening in rats.	*Regul. Toxicol. Pharmacol.*	122	104914	2021
Matsumoto M, Fujii S, Hirose N, Iso T, Shigeta Y, Murata Y, Inoue K, Hirose A.	Repeated-dose and reproductive/developmental toxicity screening of polyoxymethylene in rats.	*Fundam. Toxicol. Sci.*	8(4)	103-116	2021
Iso T, Shigeta Y, Murata Y, Hirose N,	Summary information of human health hazard	*Bull. Natl Inst. Haelth Sci.*	139	71-78	2021

Inoue K, Yamada T, Hirose A, Matsumoto M.	assessment of existing chemical substances (VII).				
Ashikaga T, Ambe K, Suzuki M, Kurimoto M, Yamada T, Tohkin M.	Establishment of a threshold of toxicological concern concept for skin sensitization by in vitro/in silico approaches.	*Journal of Japanese Cosmetic Science Society.*	45(4)	331-335	2021
Ambe K, Suzuki M, Ashikaga T, Tohkin M.	Development of quantitative model of a local lymph node assay for evaluating skin sensitization potency applying machine learning CatBoost.	*Regul. Toxicol. Pharmacol.*	125	105019	2021
Ambe K, Ohya K, Takada W, Suzuki M, Tohkin M.	In silico Approach to Predict Severe Cutaneous Adverse Reactions Using the Japanese Adverse Drug Event Report Database.	*Clin. Trasnl. Sci.*	4(2)	756-763	2021