

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

化学物質管理のための *in silico* 毒性予測の利用推進
と統合的リスク評価の基盤構築に関する研究

(24KD2004)

令和6年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 増村健一

令和7年（2025） 5月

目 次

I. 総括研究報告書（別添 3）	
化学物質管理のための <i>in silico</i> 毒性予測の利用推進と統合的リスク評価の基盤構築に関する研究	1
国立医薬品食品衛生研究所 安全性予測評価部 増村健一	
II. 分担研究報告書（別添 4）	
Ames/QSAR の活用に関する研究	1 0
国立医薬品食品衛生研究所 安全性予測評価部 増村健一、山田隆志	
Ames/QSAR データの深化と評価に関する研究	1 5
国立医薬品食品衛生研究所 ゲノム安全科学部 古濱彩子	
深層学習による QSAR モデルの深化に関する研究	2 2
東京大学大学院 薬学系研究科 水野忠快	
反復投与毒性及び生殖発生毒性を対象とした NAM を活用したリードアクロスの高度化に関する研究	2 5
国立医薬品食品衛生研究所 安全性予測評価部 山田隆志	
経口毒性評価における PBK モデルの利用に関する研究	3 4
国立医薬品食品衛生研究所 安全性予測評価部 松本真理子	
CYP 代謝に関する <i>in silico</i> アプローチの開発	3 8
名古屋市立大学 薬学研究科 安部賀央里	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表（別添 5）	4 4

化学物質管理のための *in silico* 毒性予測の利用推進と統合的リスク評価の基盤構築に関する研究

研究代表者 増村健一 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
安全性予測評価部 部長

研究要旨

化学物質管理の課題解決に資する有用な *in silico* 評価手法の開発を目指し、十分な毒性情報がない化学物質の毒性予測およびリスク評価における専門家判断を支援する *in silico* 評価技術の基盤構築を通じて、化審法等における生活関連化学物質の安全性評価に寄与することを目的として、以下の項目について研究を行った。「Ames/QSARの活用に関する研究」については、化審法の既存化学物質スクリーニング評価データを用いて、QSARによるAmes変異原性の予測精度評価を行うため、既存化学物質（1164物質）について化学構造情報（smiles）を取得し、Ames変異原性予測の対象物質の絞り込みを行った。Ames/QSARデータの深化と評価に関する研究については、芳香族アミンに対する量子化学計算に基づく相対エネルギー値を用いた評価法と部分構造に関する情報を加味し、Ames変異原性に対しバイナリーモデルによる評価スキームを提案した。「深層学習によるQSARモデルの深化に関する研究」については、深層学習モデルを用いた毒性予測に関する現状を精査すべく文献調査を実施した。リテラシー上の懸念から論文記載の結果に基づく性能評価は困難であることを見出した。「反復投与毒性及び生殖発生毒性を対象としたNAMを活用したリードアクロスの高度化に関する研究」については、リードアクロスの信頼性向上へ向け、ケーススタディの実践によってNAMの概念実証を行うため、R6年度は化審法の対象となる化学物質を対象に、毒性データベース、既存のADMEおよびAOP等情報に基づいて、ケーススタディの候補化合物の検索およびケーススタディの開発に適切なシナリオを調査した。「経口毒性評価における生理学的動力学（PBK）モデルの利用に関する研究」については、内分泌かく乱化学物質の優先リストに掲載された物質の中から、米国のToxCastプログラムで実施された *in vitro* アッセイの結果とPBKモデルによるIVIVEに用いるパラメータの入手可能性を考慮して、5物質を選定した。その5物質について *in vitro* to *in vivo* 外挿（IVIVE）を行い、*in vitro* アッセイの活性濃度から外挿された経口等価用量（OED）と *in vivo* スクリーニング試験（子宮肥大試験）で得られているLOELやBMDを比較し、IVIVEアプローチ適用の妥当性を確認した。「代謝に着目したヒトへの安全性外挿を支援する *in silico* アプローチに関する研究」については、薬物代謝酵素であるシトクロムP450（CYP）のラットとヒトの複数の分子種に関する *in silico* 予測モデルの整理、システム化を実施した。

研究分担者

増村 健一 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 安全性予測評価部・部長
山田 隆志 国立医薬品食品衛生研究所 安全性
生物試験研究センター 安全性予測評価部・室長
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 ゲノム安全科学部・主任研
究官
水野 忠快 東京大学大学院 薬学系研究科・助教
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・室長
安部 賀央里 名古屋市立大学 薬学研究科・講
師

A. 研究目的

生活環境中の化学物質の多くについて十分な毒性情報がないためリスク評価が進展していない現状は化学物質管理における大きな問題であり、国際的な課題となっている。化学物質の人健康リス

ク評価を効率的に進めるためには、*in silico* 評価手法の開発と行政利用への取り組みが重要である。化学物質の構造情報を用いた定量的構造活性相関（QSAR）、類似物質の情報からの類推（リードアクロス）、グループ化による包括的な評価等の *in silico* 手法を用いた毒性予測及び評価法の開発と基盤整備を行うことが重要である。また、世界的な動物実験削減と3Rsの流れに対応し、*in vivo* 試験にかかわる New Approach Methodology（NAM）の活用が求められる。有害性発現経路（Adverse Outcome Pathway：AOP）に基づいた統合的アプローチ（Integrated Approaches to Testing and Assessment：IATA）により、*in silico*、*in vitro* のデータを活用した人健康影響評価の科学的な基盤を構築することが必要である。先行研究課題（R3～R5）においては、Ames/QSAR 国際共同研究を主導して予測性の向上に貢献するとともに、一般毒性に関しては、代謝に基づいた反復投与毒性リード

アクロス及び AOP 開発に基づく生殖発生毒性の予測系開発を行い、さらに生理学的動力学 (PBK) モデル構築のための基盤整備、AOP 情報と機械学習を用いた *in silico* 予測モデルの開発等に取り組んだ。先行研究課題の成果と課題に基づき、本研究では化学物質管理の現場の課題解決に資する有用な *in silico* 評価手法の開発・提案を行う。化審法の毒性エンドポイントに着目し、人健康影響評価への利用を目指す。規制での利用が進む Ames/QSAR の予測性・信頼性向上を目指すとともに、より複雑な全身毒性についても動態や代謝の *in silico* 予測および統合的評価に取り組む。そのために必要な *in vitro* データを取得する。国際動向を反映しつつ、規制における行政受け入れの課題を踏まえ、専門家判断を支援する統合的リスク評価系の構築を目指す。

B. 研究方法

「Ames/QSARの活用に関する研究」については、化審法における既存化学物質の情報を用いてAmes/QSARを実施し、判定結果を分析する。QSARの適用例数、Ames試験情報との一致率等から、予測適用範囲を検討し、Ames/QSARの利用場面を提案する。R6年度は、化審法の既存化学物質スクリーニング評価に用いられるAmes試験情報と判定結果に対して、QSARモデルによるAmes変異原性の予測精度評価を行うため、スクリーニング評価サマリー表の対象物質(1164物質)について、化学構造情報(smiles記法)を取得した。得られた構造情報を整理、分類し、Ames変異原性予測の対象物質の絞り込みを行った。さらに一部の物質について2種類のQSARソフト(Lhasa社のNexus 2.4およびMultiCASE社のCASE Ultra 1.9.0.4)を用いてAmes変異原性予測を試行した。Nexusにおいては、Derek Nexus(知識ベース)とSarah Nexus(統計ベース)で予測を行った。また、CASE Ultraにおいては、GT-EXPERT(知識ベース)とGT1-BMUT(統計ベース)で予測を行った。なお、既存化学物質のスクリーニング評価のための安全性情報データは、国立医薬品食品衛生研究所安全性予測評価部第1室(井上薫室長)が作成した平成27年度以降のデータの提供を受けた。

「Ames/QSARデータの深化と評価に関する研究」については、芳香族アミンの遺伝毒性評価手法の提案を行うため、芳香族アミン構造情報は、OECD QSAR Toolbox 4.6のMETI インベントリデータ(化審法化学物質データ)から選択し、このうち890物質

は、Ames/QSARを使用して評価できる構造を有していた。この890物質のうち、OECD QSAR ToolboxにAmes変異原性データ(デフォルト設定でダウンロードできないECHAデータを除く)が存在する207物質を学習データセットとし、CASE Ultra GT1_BMUTにモデルで既知の陽性または既知の陰性がわかっている物質、および/またはUS NTPとUS EPA CompTox データベースで利用可能な合計88物質をテストデータセットとして収集した。更に、芳香族アミンの変異原性指標dEを量子化学計算で算出し、構造の特徴と組合せてモデル(スキーム案)を構築した。また、既存のQSARでは判定が困難と考えられる芳香族アミン① Diabeton (CAS RN 394-31-0)② 4-Cyclohexylaniline (CAS RN 6373-50-8)③ 5-Amino-1H-imidazole-4-carbonitrile (CAS RN 5098-11-3)のAmes試験をプレインキュベーション法で実施した。溶媒はジメチルスルホキシドを用いた。

「深層学習によるQSARモデルの深化に関する研究」については、現状の分野のサーベイを実施した。予備検討より、主たる入力形式はグラフ、または文字列表現(SMILES等)であることを見出していたため、これらを含めた以下のクエリにてPubMed、およびarXivを対象に文献を収集した。

検索クエリ : (drug OR chemical) AND toxicity AND (“neural network” OR “deep learning”) AND (graph OR SMILES OR strings)

結果、155件の候補を得た。次に「研究論文であること」、「ヒトに関連する毒性予測を志向したモデルであること」、および「化合物のグラフまたは文字列表現由来の潜在表現を利用したモデルであること」をタイトル、並びに要旨を確認して絞り込みを行った。最終的に得られた論文(63件)を対象に、内容を精査した。

「反復投与毒性及び生殖発生毒性を対象としたNAMを活用したリードアクロスの高度化に関する研究」については、ケーススタディ候補化合物の検索を行った。反復投与毒性に対しては、低毒性物質のカテゴリー化のために、先行研究で開発したNIHS反復投与毒性試験統合データベース(1518物質)からNOAEL値を不確実性係数(600; 28日間試験, 200; 90日間試験)で除した有害性評価値(D値)により化審法スクリーニング評価の有害性クラス[一般毒性]

“外”または“4”に分類される物質(D>0.5またはD>0,05)を低毒性物質として抽出して、化学構造に基づいてグループ化を行った。このうち、二つのグループについて、化学構造、物理化学性状、代謝、

毒性データを統合的に解析した。生殖発生毒性に対しては、重篤な毒性影響が懸念される物質を同定するために、AOPに基づくアプローチを適用した。先行研究で開発したDART NIHSデータベース（394物質）、NIHS反復投与毒性試験統合データベースの生殖器への影響データ（1471物質）およびECHA REACHの生殖発生毒性試験データ（1899試験）を用いて、これまでに開発した計4つの生殖発生毒性AOPに対して関連する構造アラートを持つ化学物質又は陽性のMIE（分子開始イベント）/KE（キーイベント）アッセイデータが得られた化学物質のいずれかを選択し、クラスタリング解析を行った。得られたクラスターについて、リードアクロスの適用可能性と事例研究の作成の観点から調査を行った。

「経口毒性評価における生理学的動力学（PBK）モデルの利用に関する研究」については、内分泌かく乱化学物質の優先リストの物質を対象に、以下の3条件を満たす物質を抽出した；1) 経口投与によるマウスでの子宮肥大試験が実施されている、2) エストロゲン作用の開始イベントのエストロゲン受容体（ER）への結合からタンパク質産生に至る一連のキーイベントのいずれかを対象とした15の *in vitro* アッセイ（米国ToxCastプログラム）が全て *inactive* ではない、3) PBKマウスモデルによる *in vitro* - *in vivo* 外挿（IVIVE）変換係数算出に必要なモデルパラメータが入手可能である。抽出した物質について、*in vitro* アッセイの活性濃度から外挿した経口経路の等価用量（OED）をキーイベント間で比較するにより、子宮肥大試験の量-反応関係に大きな影響を及ぼすと考えられるクリティカルなキーイベントを物質毎に選定した。選定したクリティカルキーイベントを対象とする *in vitro* アッセイの活性濃度から算出したOED_{crit}と子宮肥大試験のLOELやBMDと比較することにより、IVIVEアプローチ適用の妥当性を評価した。

「代謝に着目したヒトへの安全性外挿を支援する *in silico* アプローチに関する研究」については、ラットとヒトの複数のCYP分子種の阻害活性に関する *in vitro* 実験結果を基に作成された *in silico* 予測モデルや代謝テンプレートを整理した。これまでに開発したラット7種、ヒト11種のCYP分子種の阻害活性を判別する *in silico* 予測モデル（Ambe et al., Chem. Res. Toxicol. 37(11) 1843-1850 (2024)) をシステム化した。また、反復投与毒性に関するラットとヒトの公開情報（DILIrank: Drug Discov Today. 21(4) 648-653 (2016)、AI-SHIPS ToxDB:

<https://riss.aist.go.jp/results-and-dissemin/2798/>) を収集・整理した。

（倫理面の配慮）

本研究では動物を用いた実験は実施しない。

C. 研究結果

「Ames/QSARの活用に関する研究」については、既存化学物質スクリーニング評価サマリー表の対象物質（1164物質）について、CAS番号を用いてNIHのPubChemから機械的に情報を取得するツール（pubchempy.py）を用いてsmiles情報を取得した。ツールで取得できなかったものについては、PubChemおよび独立行政法人製品評価技術基盤機構（NITE）の化学物質総合情報提供システム（NITE-CHRIP）を参照してsmiles情報を取得した。得られた構造情報を分類し、以下に該当するものはAmes変異原性予測の対象から除いた。1. Ames試験結果に対して毒性判定情報がないもの（313物質）、2. Ames試験結果の判定が当該物質の試験結果によるものでなく、類似物質の結果に基づくもの（91物質）、3. 無機物（44物質）、4. 高分子化合物（72物質）、5. 構造不定物質（20物質）、6. その他（2物質）。Ames変異原性予測の対象物質（622物質）の一部についてAmes/QSAR予測を実施した。QSAR予測結果とAmes試験判定結果について物質名、CAS番号、smiles情報とともにエクセル表に入力した。

「Ames/QSARデータの深化と評価に関する研究」については、芳香族アミンの反応性に基づくAmes変異原性評価として、化学反応式に基づいてエネルギーを計算する方法が提唱されており、その反応式は $\text{ArNH}_2 \rightarrow (\text{S}_9) \rightarrow \text{Ar-NHOH} \rightarrow \text{Ar-NH}^+$ （ニトレンウムイオン） $\rightarrow \text{Ar-NH-DNA}$ （付加物）である。また、既存研究では以下の基準でAmes変異原性陽性か陰性かを判断することが提案されていた： $\text{ddE} = \Delta E_{\text{ArNH}^+} + \Delta E_{\text{PhNH}_2} - \Delta E_{\text{ArNH}_2} - \Delta E_{\text{PhNH}^+} > -5 \text{ kcal/mol}$ は陰性（非変異原性）になり、それ以外の場合は陽性（変異原性）。部分構造については、次の様に説明付けが可能であった。芳香族アミンを有する芳香族スルホニル基は非変異原性（不活性化）特性として知られている。芳香族アミンを有する芳香族ニトロ基は、*c*-NHOH に還元すると、ニトレンウムイオンが生成され、変異原性特性として知られている。オルト水素の置換芳香族アミンは、DNA 付加物による反応に対する構造的障害がないため、これは変異原性（活性化）特性となりうる。これらの部分構造の知見を

用いて構築した分類スキームは、 $ddE > -5 \text{ kcal/mol}$ の閾値だけで評価するモデルよりも感度が向上する結果が得られた。今後は、実施したAmes試験結果による検証や既存のAmes/QSARモデルとの比較を進める。Ames試験結果は、① Diabetonと③ 5-Amino-1H-imidazole-4-carbonitrileは陰性、② 4-Cyclohexylanilineは比活性値が1,000倍以上の強い陽性を示した。①～③は cNO_2 と cSO_2 の構造を有しない。②はオルト位置の両方が水素であった。このことから、スキームでは①と③は ddE で判定、②はオルト位置の水素を基に判定を行い、①は陰性、②と③は陽性の予測となった。

「深層学習によるQSARモデルの深化に関する研究」については、以下の成果が得られている。まず入力形式とモデル構造を評価したところ、グラフが43件、SMILESが25件、両者を併用したマルチモーダルなモデルが3件認められた。なお一報にて複数のモデルを報告しているものもあったため、上記の総計と評価対象件数は異なる。グラフ系はほとんどがmessage passingを利用したものであった。一方、言語系の場合はGRU、LSTM、そしてTransformerなど、様々なモデル構造が偏りなく利用されていた。次に評価指標に着目すると、分類タスク、回帰タスクではそれぞれAUROC、および R^2 が最も利用されていた。しかしいずれについても誤用が目立った。利用件数に着目すると、感度ベースの指標が比較的目立つことも特筆に値する。予測対象とデータセットについては、「毒性関連のバイオアッセイ結果(31件)」と「毒性試験結果・臨床毒性(35件)」に概ね大別された。一方、異なる論文間で同一名称のデータセットを利用している場合でも、用いられている化合物が異なるケースが複数認められた。

「反復投与毒性及び生殖発生毒性を対象としたNAMを活用したリードアクロスの高度化に関する研究」については、ケーススタディ候補化合物の検索を行った。反復投与毒性に対しては、低毒性物質を抽出し、化学構造に基づいてグループ化を行った。PubChem、HESS (ver. 3.3)等に登録されているADME情報を検索し、化学構造とADME情報を関連付けて低毒性に対する考察を行ったところ、長鎖状脂肪族アルコール類は吸収されにくい、中～長鎖エチレンまたはプロピレングリコールアルキルエーテル類は吸収されるが代謝を受けて尿中に速やかに排泄される、ベンゼンまたはナフタレンスルホン酸類は、吸収されにくい吸収されても化学反応性が乏しく、大部分は未変化体として尿中に排泄される可能性が示

唆された。低毒性の物質群の構造領域など更なる追加レビューを行い、リードアクロスのケーススタディに使用できるクラスター(中～長鎖エチレンまたはプロピレングリコールアルキルエーテル類)を2つ同定した。生殖発生毒性に対しては、3つの生殖毒性AOPと1つの発生毒性AOPのキーイベントを活性化する可能性がある化合物クラスターを10個抽出した。このうち近年の研究で取り上げられた一つのクラスターおよびクラスターの大きさ、構造の多様性及び活性の広がり観点から二つのクラスターの優先順位を低くした。残りのクラスター(アルキルフェノール、フタレート、ペルオキシエステル、クミルペルオキシド、ベンゼンプロパノエート、アルキルクロリド、ニトロ芳香族)について、更なるレビューを行い、ケーススタディに適したクラスターを2つ同定した。いずれも、生殖発生毒性とグルタチオン枯渇に関連していた。

「経口毒性評価における生理学的動力学(PBK)モデルの利用に関する研究」については、内分泌かく乱化学物質の優先リスト内の5物質を抽出して検討対象とした。5物質中の3物質は子宮肥大試験でエストロゲン作用が陽性で、残り2物質は陰性であった。ERへの結合からタンパク質産生に至る5つのキーイベントのいずれかを対象とした*in vitro*アッセイの最小活性濃度(ACC)、50%活性濃度(AC_{50})および90%活性濃度(AC_{90})値からIVIVEで得られたOEDの離散一様分布をキーイベント間で比較することにより、子宮肥大影響におけるクリティカルなキーイベントを物質毎に選定した。子宮肥大試験でエストロゲン作用が陽性の3物質のクリティカルキーイベントの*in vitro*アッセイから算出された OED_{crit} のLOELおよび BMD_{50} に対する比はともに $1/2 \sim 2$ 倍の範囲内であり、ACC値に基づく OED_{crit} のNOELおよび BMD_{20} に対する比はともに $1/4 \sim 4$ 倍の範囲内であった。さらに、陰性の2物質のクリティカルキーイベントの*in vitro*アッセイのACC値に基づく OED_{crit} は、子宮肥大試験の最高投与量よりも高かった。

「代謝に着目したヒトへの安全性外挿を支援する*in silico*アプローチに関する研究」については、以下の成果が得られた。これまでに開発したCYP分子種の*in silico*予測モデルをシステム化し、本研究の予測対象物質に活用した。本システムは化学物質のSMILESが入手できれば、無料公開されている分子記述子計算ソフトウェアmordredにより記述子を計算することでラット7種、ヒト11種のCYP分子種の阻害活性の有無が予測可能である。また、肝毒性に

関するラット (AI-SHIPS ToxDB) とヒト (DILIrank) の公開情報を収集・整理したところ、87物質についてラットとヒトの両方で肝毒性の情報を有することが確認された。これら87物質についてCYP分子種の阻害活性の有無を判別し、肝毒性との関連をクラスタリングにて確認した。CYP分子種の阻害活性の予測結果を用いたk-meansクラスタリング (k=4) では、ラットとヒトの肝毒性に種差がある傾向が見られるクラスターが確認された。また、代謝テンプレートについては山添らの文献にて、CYP3A4、CYP1A1、CYP1A2、CYP2C18に関するテンプレートが公表されており、CYP3A4については89物質の代謝情報が確認された。

D. 考察

「Ames/QSARの活用に関する研究」については、化審法における既存化学物質 (1164物質) について、国立医薬品食品衛生研究所安全性予測評価部が作成した安全性情報サマリー表から、CAS番号を用いて構造情報 (smiles) を取得し、Ames変異原性予測の対象物質の絞り込みを行った。その結果、Ames/QSAR予測の対象物質は622物質であった。無機物、高分子化合物、構造不定物質等のAmes/QSAR解析に適さない対象外物質が138物質あった。このことは、過去の既存化学物質スクリーニング評価の対象物質のうち12% (138/1164) はAmes/QSARが適用できない物質群であることを示している。また、Ames試験の情報がない物質が313物質あり、これらはAmes/QSARの利用によって評価に資する情報が得られる可能性がある。さらに、当該物質のデータがなく、類似物質のAmes試験結果があるものが91物質あり、これらはAmes/QSARの利用によってリードアクロスの妥当性などを判断するサポート情報が得られる可能性が考えられた。なお、用いたQSARソフトは化審法の新規化学物質審査においてAmes/QSAR参考資料の作成に使用されているものと同じだが、各ソフトの知識ベースおよび統計ベースのモジュールの選択と組み合わせによって予測精度が異なることが予想され、QSAR予測結果をどのように総合判定に用いるかは検討課題と考える。

「Ames/QSARデータの深化と評価に関する研究」については、芳香族アミンの反応性に基づくAmes変異原性評価として、ddEに加えて三種類の構造特徴を追加することにより、本データセットでは分子量の閾値を含まないスキームの提案が行えた。量子化学計算では初期過程を単純な反応として説明可能で

あるが、構造の特徴を追加することで、副次的な反応 (DNA結合能) を加味することが可能となったと考えられる。より複雑な要素を組み込んだモデルやスキームの提案も可能ではあったが、化学物質管理での活用を考慮し、三構造を考慮したシンプルなスキームの提案とした。今後の課題は、スキーム案での評価がうまくいかなかった構造の考察である。例えばAmes試験を実施した③5-Amino-1H-imidazole-4-carbonitrileについては、ヘテロ環やシアノ基を有する芳香族アミンであり、これらの構造的なルールを検証することが挙げられる。

「深層学習によるQSARモデルの深化に関する研究」については、サーベイの結果より以下の点が考察される。まず不均衡データに対して楽観的な指標となるAUROCが不均衡データに対しても用いられるケースが散見された他、 R^2 については線形モデルでもないのに相関係数を二乗するなど、そもそも定義が誤っているケースが認められた。深層学習モデルのQSAR応用に関して、そもそも情報学・統計学的なリテラシー自体が懸念される。また評価用データセットが統一されていない他、同一名称であっても内容が異なるケースや、中には出典すら明確でないケースも存在しており、少なくとも表にまとめられた結果のみに性能を評価するのは危険と推察される。一方、分類タスクの評価指標に関して、感度ベースの指標が比較的好く用いられていた点は、「毒性のある化合物を検出する」ことに主眼を置いた本研究分野の特性を反映していると推察され、適切な傾向と考えられる。

「反復投与毒性及び生殖発生毒性を対象としたNAMを活用したリードアクロスの高度化に関する研究」については、化審法の対象となる化学物質を中心とした既存の毒性データベースと試験物質の化学構造およびNAMに基づくリードアクロスケーススタディの候補化合物の検索を行った。反復投与毒性に対しては、低毒性物質に焦点を当てたが、強毒性物質と比較して論文等の既存情報は少なかった。したがって、低毒性と関連するパラメータを測定あるいは予測するトキシコキネティクスや代謝に関連するNAMを同定し評価することが次の課題となる。生殖発生毒性に対しては、反復投与毒性と同様に化学構造の類似性だけで毒性の類似性を正当化するのは難しい。したがって重篤な毒性につながるAOPに基づき、類似物質をグループ化することが信頼性向上のために有用である。AOPの上流のMIE/KE、下流のKEを測定/予測するNAMを同定し、それらを組み合わせ

て用いることが必要になると考えられる。

「経口毒性評価における生理学的動力学 (PBK) モデルの利用に関する研究」については、得られた結果から、IVIVEアプローチの適用はほぼ妥当と考えられ、子宮肥大試験やそれ以外の短期の *in vivo* 試験の代替法としての可能性を示唆していると考えられた。現在、IVIVE法は主にスクリーニングと優先順位付けへの適用が想定され、活発に検討が行われている。しかし、現行の定量的リスク評価で使用される *in vivo* 試験のNOAEL等のPoDの代替となり得るOEDを *in vitro* アッセイから導出するためには、*in vivo* の毒性発現に係る作用機序の各キーイベントの中から如何にしてクリティカルなキーイベントを選定し、PoDとなり得るOEDを導出するかについて、さらなる検討が必要と考えられる。

「代謝に着目したヒトへの安全性外挿を支援する *in silico* アプローチに関する研究」については、CYP分子種の阻害活性の予測結果を用いたクラスタリングの結果から、ラットとヒトの肝毒性に種差がある傾向が見られるクラスターが確認され、CYPを介した化学物質の代謝の違いは、肝毒性の種差に関する情報を提供できる可能性が示唆された。また、化学物質のSMILESが入手できれば、ラット7種、ヒト11種のCYP分子種の阻害活性の有無が予測可能なシステムの構築は、代謝の種差情報を *in silico* にて簡便に得ることができ、動物試験の毒性情報からヒトへの外挿を行う際に有用な支援手段となると考えられる。

E. 結論

「Ames/QSARの活用に関する研究」については、QSARモデルによるAmes変異原性の予測精度評価を行うため、化審法における既存化学物質スクリーニング評価データを用いて、既存化学物質 (1164物質) について化学構造情報 (smiles記法) を取得し、Ames変異原性予測の対象物質の絞り込みを行った。Ames/QSAR予測の対象物質は622物質であった。Ames/QSAR解析に適さない対象外物質は138物質 (12%) であった。Ames試験の情報がない既存化学物質は313物質、類似物質のAmes試験結果があるものが91物質であった。対象物質において2種類のQSARソフトを用いてAmes変異原性予測を行う予定。

「Ames/QSARデータの深化と評価に関する研究」については、芳香族アミンAmes変異原性予測について化審法既存化学物質に対応する物質のAmes試験データを基に、量子化学計算で得られるエネルギー指

標ddEと芳香族アミンに含まれる部分構造情報を組み合わせることで、行政に活用するのに適切なAmes変異原性予測モデル・スキームを提案した。また、検証するためのデータに資する三物質についてのAmes実試験を実施した。また、今回用いた学習セットでは、これまでの研究で提案されていた $ddE = -5 \text{ kcal/mol}$ と比較しても妥当なカットオフ値であることが示された。

「深層学習によるQSARモデルの深化に関する研究」については、既存情報のキャッチアップを終えるとともに、既存論文が提示する結果に基づく単純な比較では性能を十分に比較・評価できないことを見出した。

「反復投与毒性及び生殖発生毒性を対象としたNAMを活用したリードアクロスの高度化に関する研究」については、リードアクロスの信頼性向上へ向けてケーススタディの実践によってNAMの概念実証を行うため、R6年度は化審法の対象となる化学物質を対象に、先行研究で整備した反復投与毒性・生殖発生毒性データベースや既存ADMEおよびAOP情報等に基づいて、ケーススタディの候補化合物の検索とケーススタディの開発に適切なシナリオを調査した。

「経口毒性評価における生理学的動力学 (PBK) モデルの利用に関する研究」については、内分泌かく乱化学物質の優先リスト内の5物質を対象とした検討で、子宮肥大試験の結果をほぼ妥当に予測できたと考えられたが、今後もさらに多様な特性の物質に適用を拡大してIVIVEアプローチの適用性を子宮肥大試験や他の短期間の *in vivo* 試験で評価することが重要である。

「代謝に着目したヒトへの安全性外挿を支援する *in silico* アプローチに関する研究」については、これまでに開発したラットとヒトの複数のCYP分子種の阻害活性を化学構造情報のみから判別する *in silico* 予測モデルをシステム化し、本研究の予測対象物質に活用可能とした。また、CYP分子種の阻害活性情報からラットとヒトの肝毒性に関する種差情報を *in silico* にて提供できる可能性を見出した。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

(発表誌名・頁・発行年等も記入)

1. Yamamoto S, Yoshida K, Matsumoto M, Yama

- da T. Construction and evaluation of an open-source database for inhalation-based physiologically based kinetic modeling of selected categories for industrial chemicals. *J. Toxicol. Sci.* 2025; 50: 57-68.
2. Hirose N, Hasegawa, S, Umamo T, Murata Y, Iso T, Inoue K, Yamada T, Masumura K, Matsumoto M: Summary information of human health hazard assessment of existing chemical substances (X). *Bull. Natl Inst. Health Sci.* 2024 142: 63-70
 3. Kawashima A, Inoue K, Ushida K, Kai K, Yoshida-Yamashita LS, Masumura K: Derivation of human health hazard assessment values for tetramethylammonium hydroxide (TMAH) under the Japan Chemical Substances Control Law. *Fundamental Toxicol Sci* 2024 11: 267-278.
 4. Furuhama A, Sugiyama K, Honma M, Ames mutagenicity of 15 aryl, benzyl, and aliphatic ring *N*-nitrosamines. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 2025;156;105763. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2024.105763>.
 5. Muto S, Furuhama A, Yamamoto M, Otagiri Y, Koyama N, Hitaoka S, Nagato Y, Ouchi H, Ogawa M, Shikano K, Yamada K, Ono S, Hoki M, Ishizuka F, Hagio S, Takeshita C, Omori H, Hashimoto K, Chikura S, Honma M, Sugiyama K, Mishima M. Local QSAR based on quantum chemistry calculations for the stability of nitrenium ions to reduce false positive outcomes from standard QSAR systems for the mutagenicity of primary aromatic amines. *Genes Environ.* 2024;46(1);24. <https://doi.org/10.1186/s41021-024-00318-4>
 6. Yamamoto S, Yoshida K, Matsumoto M, Yamada T. Construction and evaluation of an open-source database for inhalation-based physiologically based kinetic modeling of selected categories for industrial chemicals. *J. Toxicol. Sci.* in press
 7. Ninomiya Y, Watanabe H, Yamagishi T, Maruyama-Komoda T, Yamada T, Yamamoto H. Prediction of chronic toxicity of pharmaceuticals in *Daphnia magna* by combining ortholog prediction, pharmacological effects, and quantitative structure-activity relationship. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2024; 282: 116737.
 8. Ambe K, Aoki Y, Murashima M, Wachino C, Deki Y, Ieda M, Kondo M, Hibi Y, Kimura K, Hamano T, Tohkin M. Prediction of cisplatin-induced acute kidney injury using an interpretable machine learning model and electronic medical record information. *Clinical and Translation Science.* 18(1) e70115 (2025).
 9. Ambe K., Nakamori M., Tohno R., Suzuki K., Sasaki T., Tohkin M., Yoshinari K. Machine learning-based in silico prediction of the inhibitory activity of chemical substances against rat and human cytochrome P450s. *Chem. Res. Toxicol.* 37(11) 1843-1850 (2024).
 10. Ashikaga T., Hatano K., Iwasa H., Kinoshita K., Nakamura N., Ambe K., Tohkin M. Next Generation Risk Assessment Case Study: A Skin Sensitization Quantitative Risk Assessment for Bandrowski's Base Existing in Hair Color Formulations. *Journal of Japanese Cosmetic Science Society.* 48(2), 73-77 (2024).
 11. Watanabe T., Ambe K., Tohkin M. Streamlining Considerations for Safety Measures: A Predictive Model for Addition of Clinically Significant Adverse Reactions to Japanese Drug Package Inserts. *Biol Pharm Bull.* 47(3), 611-619 (2024).
 12. Watanabe T., Ambe K., Tohkin M. Predicting the Addition of Information Regarding Clinically Significant Adverse Drug Reactions to Japanese Drug Package Inserts Using a Machine Learning Model. *Ther Innov Regul Sci.* 58(2), 357-367 (2024).
- ## 2. 学会発表
1. 増村健一：ニトロソアミン類の混入に関するリスク評価。レギュラトリーサイエンス学会WEBシンポジウム～医薬品におけるニトロソアミン類の混入リスクへの対応～(2024.06)
 2. 村田康允, 赤木純一, 土井悠子, 磯貴子, 馬野高昭, 小川久美子, 増村健一, 松本真理子：ジルコニウムブトキシドのラットを用いた90日間反復経口投与毒性試験。第51回日本毒性学会学術年会(2024.07)
 3. Matsumoto M, Yoshida K, Umamo T, Murata Y, Hirose N, Iso T, Yamada T, Masumura K：In vitro to in vivo extrapolation (IVIVE) for uterotrophic activity of 4-alpha-cumylphenol. 第51回日本毒性学会学術年会(2024.07)
 4. 増村健一：医薬品ニトロソアミン不純物のリスク評価の現状と課題。日本環境変異原ゲノム学会BMS研究会第70回定例会 (2024.07)
 5. 杉森裕樹, 伊藤直子, 小田嶋剛, 堀口逸子, 間宮弘晃, 大平隆史, 増村健一, 平尾磨樹, 本間正充：医療従事者等を対象としたニトロソア

- ミン類の適正な安全性情報提供に関する検討. 第83回日本公衆衛生学会総会 (2024.10)
6. 菊池陽佑, 吉開泰裕, 古濱彩子, 根本駿平, 山田隆志, 楠原洋之, 水野忠快: QSAR予測に向けた化学言語モデル運用におけるSMILES表記の方言の影響. 第51回日本毒性学会学術年会 (2024.07)
 7. Mizuno T, Kikuchi Y, Yoshikai Y, Furuham A, Nemoto S, Yamada T, Kusuhara H: The impact of notational inconsistencies in SMILES for QSAR prediction with chemical language models. EUROTOX 2024(2024.09)
 8. Furuham A, Sugiyama K, Honma M: Ames mutagenicity investigation of aromatic, cyclic and their related *N*-nitrosamineds. 55th Annual Meeting of The Environmental Mutagenesis and Genomics Society (2024.09)
 9. 古濱彩子, 亀山暁子, 三島雅之, 杉山圭一, 本間正充: 化学物質審査での活用を目指した芳香族アミンのAmes変異原性評価手法の提案. 日本環境変異原ゲノム学会第53回大会 (2024.12)
 10. 水野忠快, 根本駿平, 吉開泰裕, 菊池陽介, 古濱彩子, 山田隆志, 楠原洋之: 化学言語モデルによる化合物構造の数値化. 第52回構造活性相関シンポジウム (2024.12)
 11. 菊池陽佑, 吉開泰裕, 古濱彩子, 根本駿平, 楠原洋之, 山田隆志, 水野忠快: SMILESの表記揺れ統一化による化学言語モデルへの影響. 第52回構造活性相関シンポジウム (2024.12)
 12. 水野忠快: 低分子化合物の潜在表現を抽出するモデリング. 第51回日本毒性学会学術年会 (2024.07)
 13. 水野忠快, 菊池陽佑, 吉開泰裕, 根本駿平, 古濱彩子, 山田隆志, 楠原洋之: The impact of notational inconsistencies in SMILES for QSAR prediction with chemical language models. EuroTox2024 (2024.09)
 14. 水野忠快: 化合物作用の理解に向けた恣意性のない数値化とパターン認識. CBI学会 2024 (2024.10)
 15. 吉開泰裕, 水野忠快, 楠原洋之: Reconstructable latent representation of molecules by Graph Transformer VAE. CBI学会 2024 (2024.10)
 16. 根本駿平, 水野忠快, 吉開泰裕, 楠原洋之: Clmpy: A platform for Chemical Language Model comparable training and structure generation ability. CBI学会 2024 (2024.10)
 17. 水野忠快: 毒性学を志向した言語モデルによる潜在表現抽出. 第7回医薬品毒性機序研究会 (2025.01)
 18. 李澤昇, 水野忠快, 根本駿平, 楠原洋之: 医学薬学領域における深層学習を用いた化合物毒性予測研究の現状と課題. 第7回医薬品毒性機序研究会 (2025.01)
 19. Yamada T, Maruyama-Komoda T, Jojima K, Yamazoe Y, Masumura K. Extracting hepatotoxicity-related insights by expert-driven comprehensive analysis on animal toxicity data: Towards new approach methodologies-based risk assessment. Society of Toxicology 64th Annual Meeting (2025.3.20)
 20. 山田隆志. (Q)SAR予測の信頼性をどのように評価するか?: OECD (Q)SAR評価フレームワーク(QAF)の概要. 日本動物実験代替法学会第37回大会 (2024.12.1)
 21. Yamada T, Maruyama-Komoda T, Jojima K, Yamazoe Y, Masumura K. Multifaceted data analysis on animal toxicity database for extracting hepatotoxicity-related insights: Towards improved safety assessment integrating new approach methodologies. 13th Annual Meeting of the American Society for Cellular and Computational Toxicology (2024.10.28)
 22. Ono A, Akahori Y, Ambe K, Yoshinari K, Yamada T. Evaluation of the Caco-2 permeability assay as NAM, New approach methodologies, for in vivo repeated dose toxicity NOAEL assessment. 58th Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX 2024) (2024.9.11)
 23. Hayashi T, Fukushima A, Akahori Y, Kawamura T, Yamada T, Hirose A. Identification of chemical categories of E&Ls having PDEs below the proposed threshold of toxicological concern for non-genotoxic chemicals via intravenous (TTCiv). 58th Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX 2024) (2024.9.10)
 24. Yamada T, Maruyama-Komoda T, Jojima K, Yamazoe Y, Masumura K. Extracting hepatotoxicity-related insights through analysis on animal toxicity database - Towards improving in silico prediction accuracy. 58th Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX 2024) (2024.9.9)
 25. 山田隆志, 丸山(薦田)多恵子, 広瀬明彦. 医薬品の生態毒性評価を支援するデータベースとin silico予測手法の開発. 第51回日本毒性学会学術年会 (2024.7.5)

26. 山本繁史, 丸山(薦田)多恵子, 小林憲弘, 山本裕史, 山田隆志. 国内の新医薬品の環境影響評価フローにおけるaction limit及びPEC値の妥当性の評価. 第3回環境化学物質合同大会 (2024.7.4)
27. 廣田衛彦, 豊田明美, 畑尾正人, 笛木修, 山田隆志, 伊藤晃成, 小野敦. パネルディスカッション「化粧品の安全性保証の新たな考え方: Next Generation Risk Assessment (NGRA) の行政利用に向けたチャレンジ」.第49回日本化粧品学会 (2024.6.29)
28. 松本真理子, 磯貴子, 馬野高昭, 村田康允, 広瀬望, 増村健一, 堀端克良, 杉山圭一: トルエンジソシアネート経口投与によるMutaMouse肝臓における変異原性. 第53回日本環境変異ゲノム学会 (2024.12)
29. Kaori Ambe Prediction of skin sensitization using machine learning JSAAE & ASCCT-ESTIV Joint Webinar (2024.12)
30. 安部賀央里 皮膚感作性評価における機械学習モデルの活用 スポンサーシップシンポジウム革新的創薬支援ツールとしての New Approach Methodologies (NAMs) 最前線 CBI 学会 2024年大会 (2024.10)
31. 安部賀央里 機械学習を活用したレギュラトリーサイエンス研究 講演 データ解析を取り入れたレギュラトリーサイエンス研究の紹介 第10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 (2024.9)
32. 安部賀央里 機械学習を用いた副作用予測に関する研究 シンポジウム 100歳を超える健康設計への挑戦 第25回応用薬理シンポジウム (2024.9)
33. 安部賀央里 New Approach Methodologies (NAMs) を活用した皮膚感作性強度予測に向けた機械学習モデルの開発 フォーラムII New Approach Methodologies (NAMs) による毒性の評価 フォーラム2024衛生薬学・環境トキシコロジー (2024.9)
34. Linfeng LIU, Kaori AMBE, Mayu ONISHI, Yuka YOSHII, Toshiaki MAKINO, Masahiro TOHKIN Comparison of Multiple Disease-Modifying Antirheumatic Drugs Combination Therapies with Methotrexate in Rheumatoid Arthritis: A Systematic Review and Bayesian Network Meta-Analysis of Efficacy and Safety The 9th Nagoya / Gifu / Shenyang / Nanjing Symposium of Pharmaceutical Sciences 2024 Nagoya (2024.9)
35. 安部賀央里 AI/機械学習 in 毒性学 ～化学物質の毒性予測モデル開発～ ワークショップ 2 ミライの毒性学 明日から役立つ最先端技術 第51回日本毒性学会学術年会 (2024.7)
36. 鈴木孝太郎, 安部賀央里, 有吉純平, 神谷由紀子, 頭金正博 ギャップマー型アンチセンスによるマウスでの血液中アラニンアミノトランスフェラーゼ上昇を予測するためのin silicoモデルの開発 第51回日本毒性学会学術年会 (2024.7)
37. 徳永朱莉, 木下啓, 安部賀央里, 山田隆志, 足利太可雄, 頭金正博 機械学習を活用した皮膚感作性強度予測モデルの開発と解釈性向上に向けた検討 第51回日本毒性学会学術年会 (2024.7)
38. 安部賀央里 機械学習を活用した薬剤性腎障害の予測モデルの開発 ワークショップ 7 ICTは急性期の腎臓診療に変革をもたらすか? 第67回日本腎臓学会学術総会 (2024.6)
39. 安部賀央里 データベースと機械学習を活用した副作用予測研究シンポジウム 5 医療DX時代を先導する「薬学×データサイエンス」の取り組み 第26回医薬品情報学会総会・学術大会 (2024.6)

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

令和6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

分担研究課題名： Ames/QSAR の活用に関する研究

研究分担者 増村健一 国立医薬品食品衛生研究所 安全性予測評価部・部長
研究分担者 山田隆志 国立医薬品食品衛生研究所 安全性予測評価部第三室長
研究協力者 城島光司 国立医薬品食品衛生研究所 安全性予測評価部第三室
研究協力者 藤井真人 国立医薬品食品衛生研究所 安全性予測評価部第三室

研究要旨

Ames/QSARの行政利用場面の拡大を目的として、QSARモデルによるAmes変異原性の予測精度評価を行うため、化審法における既存化学物質スクリーニング評価データを用いてAmes/QSARを試行した。既存化学物質（1164物質）について化学構造情報（smiles記法）を取得し、Ames変異原性予測の対象物質の整理と絞り込みを行った。CAS番号を用いてNIHのPubChemおよび独立行政法人製品評価技術基盤機構（NITE）の化学物質総合情報提供システム（NITE-CHRIP）を参照してsmiles情報を取得した。無機物、高分子化合物、構造不定物質等のAmes/QSAR解析に適さない対象外物質は138物質（12%）であった。その他の対象外物質として、Ames試験の情報がないものは313物質、類似物質のAmes試験結果があるものが91物質であった。Ames/QSAR予測の対象物質は622物質であった。引き続き、対象物質において2種類のQSARソフト（知識ベースと統計ベースの組み合わせ）を用いてAmes変異原性予測を行う予定である。

A. 研究目的

生活環境中の化学物質の多くについて十分な毒性情報がないためリスク評価が進展していない現状は化学物質管理における大きな問題であり、国際的な課題となっている。化学物質の人健康リスク評価を効率的に進めるためには、*in silico*評価手法の開発と行政利用への取り組みが重要である。化学物質の構造情報を用いた定量的構造活性相関（QSAR）、類似物質の情報からの類推（リードアクロス）、グループ化による包括的な評価等の *in silico* 手法を用いた毒性予測及び評価法の開発と基盤整備を行うことが重要である。また、世界的な動物実験削減と 3Rs の流れに対応し、*in vivo* 試験にかかわる New Approach Methodology (NAM) の活用が求められる。有害性発現経路（Adverse Outcome Pathway：AOP）に基づいた統合的アプローチ（Integrated Approaches to Testing and Assessment：IATA）により、*in silico*, *in vitro* のデータを活用した人健康影響評価の科学的な基盤を構築することが必要である。本研究では化学物質管理の現場の課題解決に資する有用な *in silico* 評価手法の開発・提案を行う。化審法の毒性エンドポイントに着目し、人健康影響評価への利用を目指す。規制での利用が進む Ames/QSAR の予測性・信頼性向上を目指すとともに、より複雑な

毒性についても統合的評価に取り組み、専門家判断を支援する統合的リスク評価系の構築を目指す。本分担研究「Ames/QSAR の活用に関する研究」においては、Ames/QSAR の行政利用場面の拡大を目的として、化審法における既存化学物質情報を用いた Ames/QSAR を実施する。予測性と適用範囲の分析を行い、一般化学物質の評価における Ames/QSAR 活用場面の考察と提案を行う。

B. 研究方法

化審法における既存化学物質の情報を用いて Ames/QSAR を実施し、判定結果を分析する。QSAR の適用例数、Ames 試験情報との一致率等から、Ames/QSAR の予測性と適用範囲を検討し、Ames/QSAR の利用場面を提案する。R6年度は、化審法の既存化学物質情報をもとに Ames/QSAR 検討用のデータセットと分類情報を作成した。化審法における既存化学物質の評価においては、厚生労働省が担当する人健康影響評価に関して、国立医薬品食品衛生研究所安全性予測評価部が評価書等の原案作成や行政支援を行っている。本研究では、既存化学物質スクリーニング評価において安全性情報の収集と整理を行っている安全性予測評価部第1室（井上薫室長）より、平成27年度以降の既存化学物質スクリーニング評価データの提供を受けた。化審法の既存化学物質スクリー

ニング評価に用いられるAmes試験情報と判定結果に対して、QSARモデルによるAmes変異原性の予測精度評価を行うため、スクリーニング評価サマリー表の対象物質（1164物質）について、化学構造情報（smiles記法）を取得した。得られた情報を整理、分類し、Ames変異原性予測の対象物質の絞り込みを行った。さらに一部の物質について2種類のQSARソフト（Lhasa社のNexus 2.4およびMultiCASE社のCASE Ultra 1.9.0.4）を用いてAmes変異原性予測を試行した。Nexusにおいては、Derek Nexus（知識ベース）とSarah Nexus（統計ベース）で予測を行った。また、CASE Ultraにおいては、GT-EXPERT（知識ベース）とGT1-BMUT（統計ベース）で予測の試行を行った。

（倫理面の配慮）

本研究では動物を用いた実験は実施しない。

C. 研究結果

既存化学物質スクリーニング評価サマリー表の対象物質（1164物質）について、名称とCAS番号を抽出してエクセルの作業シートを作成した。次に、個別物質の化学構造を記述するsmiles情報を取得した。CAS番号を用いてNIHのPubChemから機械的に情報を取得するツール（pubchempy.py）を用いて、各物質のsmiles情報を取得した。ツールで取得できなかった物質については、PubChemおよび独立行政法人製品評価技術基盤機構（NITE）の化学物質総合情報提供システム（NITE-CHRIP）を参照してsmiles情報を取得した。得られた情報を整理・分類し、以下に該当するものはAmes変異原性予測の対象から除いた（図1）。1. Ames試験結果に対して毒性判定情報がないもの（313物質）、2. Ames試験結果の判定が当該物質の試験結果によるものでなく、類似物質の結果に基づくもの（91物質）、3. 無機物（44物質）、4. 高分子化合物（72物質）、5. 構造不定物質（20物質）、6. その他（2物質）。Ames変異原性予測の対象物質（622物質）の一部についてAmes/QSAR予測を実施した。2種類のQSARソフトを用いてAmes変異原性予測を試行した。Nexusにおいては、Derek Nexus（知識ベース）とSarah Nexus（統計ベース）で予測を行った。Derek Nexusの判定（INACTIVE, PLAUSIBLE, PROBABLE, EQUIVOCAL）、Sarah Nexusの判定（negative, equivocal, positive, outside domain）をエクセルに入力した。CASE Ultraにおいては、GT-EXPERT（知識ベース）

とGT1-BMUT（統計ベース）で予測の試行を行った。CASE GT-EXPERTおよびGT1-BMUTの判定（Known Negative, Negative, Positive, Known Positive, Inconclusive, Out of Domain）をエクセルに入力した。Ames試験判定結果については、既存化学物質スクリーニング評価サマリー表から、変異原性クラス判定の根拠の一つである復帰突然変異試験の判定情報を抽出した。QSAR予測結果とAmes試験判定結果について物質名、CAS番号、smiles情報とともにエクセル表に入力した。

D. 考察

化審法における既存化学物質のスクリーニング評価のために国立医薬品食品衛生研究所安全性予測評価部が作成している安全性情報サマリー表に基づいて、1164物質についてAmes変異原性予測に用いるための対象物質の整理と絞り込みを行った。まず、CAS番号がない重合体や混合物を対象外として除いた。次に、CAS番号を用いてAmes/QSAR予測に必要な化学構造情報（smiles）を取得した。さらに、Ames/QSAR予測の比較対象となるAmes試験の判定情報がない物質を除外した。

全1164物質中、無機物、高分子化合物、構造不定物質等のAmes/QSAR解析に適さない対象外物質が138物質あった。このことは、過去の既存化学物質スクリーニング評価の対象物質のうち12%（138/1164）はAmes/QSARが適用できない物質群であることを示している。逆に言えば、評価が必要な既存化学物質の9割近くはAmes/QSARが利用できる可能性がある。限られた物質数ではあるが、今回用いたデータには平成27年度以降の約10年間に評価された（または評価中の）既存化学物質が含まれており、時系列以外の物質選択バイアスが小さいと考えられることから、既存化学物質の評価においては9割程度の物質でAmes/QSARが実施できる可能性があることが示唆された。

また、全1164物質中にAmes試験の情報がない物質が313物質あった。これらについては、CAS番号とsmiles情報が取得できれば、Ames/QSARの利用によって評価に資する情報が得られる可能性がある。予測結果に対するAmes試験判定情報がなく予測結果の検証ができないため、今回の集計では対象外に分類されるが、精度の高い予測が行えれば今後の評価に有益と考えられ、検討課題としたい。

さらに、当該物質のデータがないが、類似物質のAmes試験結果があるものが91物質あった。これらは、

評価対象物質の試験情報が得られないとき、構造類似物質の試験情報を用いて毒性の類推を行うリードアクロスの手法を試みるために収集された情報であり、評価に用いられたものを含んでいる。こうした類似化合物についてもAmes/QSARを利用することによって、リードアクロスの妥当性などを判断するサポート情報が得られる可能性が考えられる。

集計の結果、CAS番号、smiles情報、Ames試験判定結果が揃っている622物質をAmes/QSAR予測の対象物質とした。一部の物質について2種類のQSARソフトを用いてAmes変異原性予測を試行した。ICH M7（医薬品中DNA反応性（変異原性）不純物の評価及び管理）ガイドラインでは、相補的な二つのQSAR法（専門的経験に基づくルールベースの方法及び統計ベースの方法）を用いて実施することとされている。今回、Lhasa社のNexusおよびMultiCASE社のCASE Ultraを用いた。Nexusにおいては、Derek Nexus（知識ベース）とSarah Nexus（統計ベース）の各モジュールがあり、それぞれの予測を行った。CASE Ultraにおいては、GT-EXPERT（知識ベース）とGT1-BMUT（統計ベース）の各モジュールで予測を行った。用いたQSARソフトは化審法の新規化学物質審査においてもAmes/QSAR参考資料の作成に使用されている代表的なソフトだが、各ソフトの知識ベースおよび統計ベースのモジュールは独自に予測を行うため、個々のQSAR予測結果をどのように総合判定に用いるかが重要である。陽性陰性の予測結果の定義がソフトによって異なることが知られており、Ames試験の陽性または陰性結果との一致をどのように定義して集計するか、選択と組み合わせによって予測精度に影響することが予想される。ハザード検出の観点からは、一つ以上のモジュール（予測モデル）で陰性でないと予測された場合には、陽性の可能性を示すものとして扱う保守的な手法が用いられることが多い。一方、QSARモデルの学習データに存在しない構造の物質については予測の信頼性が低いいため、out of domainと判定された場合は予測結果を用いないことも有効と考えられる。

現在、化審法の新規化学物質の評価における参考資料としてAmes/QSAR予測結果が作成されているが、そこではDerek Nexus（知識ベース）とCASE GT1-BMUT（統計ベース）およびTIMES（代謝を考慮した予測）の3つが使用されている。それぞれ独立した予測結果が参考情報として提示されているが、個々のQSARモデルの予測精度、または知識ベースと統計ベースの精度比較や相補性の検討は十分でない。今回、

同じソフト内でDerek Nexus（知識ベース）とSarah Nexus（統計ベース）、CASE UltraのGT-EXPERT（知識ベース）とGT1-BMUT（統計ベース）の予測を行い、結果を集計することで、単独モデルでの予測とモデルの組み合わせによる予測を比較することが可能と考える。

なお、Ames/QSAR予測の対象物質は622物質であったが、今後のQSAR予測結果を検証するためのAmes試験判定結果についても、判定結果の透明性を向上させるため、過去に厚生労働省の審議会での審議を踏まえた結果に絞り込むことが必要と考えられた。そのため、実際にAmes/QSAR予測精度の検証に用いるデータセットは500物質程度になると予想される。

E. 結論

QSARモデルによるAmes変異原性の予測精度評価を行うため、化審法における既存化学物質スクリーニング評価データを用いて、既存化学物質（1164物質）について化学構造情報（smiles記法）を取得し、Ames変異原性予測の対象物質の整理と絞り込みを行った。Ames/QSAR予測の対象物質は622物質であった。Ames/QSAR解析に適さない対象外物質は138物質（12%）であった。Ames試験の情報がない既存化学物質は313物質、類似物質のAmes試験結果があるものが91物質であった。引き続き対象物質において2種類のQSARソフトを用いてAmes変異原性予測を行う予定である。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

（発表誌名・頁・発行年等も記入）

1. Hirose N, Hasegawa, S, Umamo T, Murata Y, Iso T, Inoue K, Yamada T, Masumura K, Matsumoto M: Summary information of human health hazard assessment of existing chemical substances (X). Bull. Natl Inst. Health Sci. 2024 142: 63-70
2. Kawashima A, Inoue K, Ushida K, Kai K, Yoshida-Yamashita LS, Masumura K: Derivation of human health hazard assessment values for tetramethylammonium hydroxide (TMAH) under the Japan Chemical Substances Control Law. Fundamental Toxicol Sci 2024 11: 267-278.

2. 学会発表

1. 増村健一：ニトロソアミン類の混入に関するリスク評価. レギュラトリーサイエンス学会WEBシンポジウム ～医薬品におけるニトロソアミン類の混入リスクへの対応～ (2024. 06)
2. 村田康允, 赤木純一, 土井悠子, 磯貴子, 馬野高昭, 小川久美子, 増村健一, 松本真理子：ジルコニウムブトキシドのラットを用いた90日間反復経口投与毒性試験. 第51回日本毒性学会学術年会(2024. 07)
3. Matsumoto M, Yoshida K, Umamo T, Murata Y, Hirose N, Iso T, Yamada T, Masumura K：In vitro to in vivo extrapolation (IVIVE) for uterotrophic activity of 4- α -cumylphenol. 第51回日本毒性学会学術年会(2024. 07)
4. 増村健一：医薬品ニトロソアミン不純物のリスク評価の現状と課題. 日本環境変異原ゲノ

ム学会BMS研究会第70回定例会 (2024. 07)

5. 杉森裕樹、伊藤直子、小田嶋剛、堀口逸子、間宮弘晃、大平隆史、増村健一、平尾磨樹、本間正充：医療従事者等を対象としたニトロソアミン類の適正な安全性情報提供に関する検討. 第83回日本公衆衛生学会総会 (2024. 10)

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

図1

評価対象(及び対象外)とした化審法既存化学物質の内訳

対象	対象外	対象外内訳						計
		Ames 試験 の情報なし	類似物質の 結果で判定	高分子	無機物	構造不定	その他	
622 (+2)	542	313	91	72	44	20	2	1164 (+2)

*対象物質(+2) について：対象1物質(単一CAS)が2成分の混合物であるところ、Nexusではそのまま扱われるが、CASEでは別々の物質(成分1と成分2)として扱われるため、当該物質については混合物に加えて成分1と成分2についての予測結果が生じるため、(+2)として暫定集計した。(今後の予測結果をふまえて再集計する予定。)

研究要旨

本研究課題では、初期化学反応に基づく透明性の高い手法の開発の第一段階として、OECD QSAR ToolboxにCAS番号とSMILESリストが存在するMETI Japanインベントリデータの物質（化審法化学物質に対応）を対象として、得られるAmes試験結果を学習セットとして、量子化学計算で得られる相対エネルギー値と部分構造情報を考慮にいれたバイナリモデルを提案し、その有効性と問題点について議論を行う。

芳香族アミン構造情報は、METI インベントリデータから選択し、QSAR ToolboxにAmes変異原性データ（デフォルト設定でダウンロードできない ECHA データを除く）が存在する207物質を学習データセットとし、CASE Ultra GT1_BMUTにモデルで既知の陽性または既知の陰性がわかっている物質、および/またはUS NTPとUS EPA CompTox データベースで利用可能な合計88物質をテストデータセットとして収集した。更に、芳香族アミンの変異原性指標ddE（相対エネルギー値）を量子化学計算で算出し、構造の特徴と組合せてモデル（スキーム）を構築した。

収集した学習セット208物質のうち陽性は118物質、陰性は90物質であり、テストセット88物質のうち陽性は35物質、陰性は53物質であった。置換基の構造的な特徴を加味することで、統計データのうちMCC以外全てが0.8以上という高い性能の結果が得られたが、ddEで評価できる物質数が減少した。学習セットを用いて構造的な特徴にddEを加味して構築した評価スキーム案では、すべての学習セットの評価が可能になり、テストセットについてもddEのみの評価と比較すると特異度以外の指標が向上した。今回のスキームは感度が高く、可能な初期化学反応を加味したバイナリモデルの提案につながると期待できる。

A. 研究目的

初期化学反応メカニズムに基づく変異原性インシリコ予測はQSARを補完する演繹的手法として有効である。しかしながら、生体分子である、たんぱく質やDNA等を考慮に入れたシミュレーション・量子化学計算は多種多様な化学物質を評価する方法として現実的ではない。行政で受け入れられるためには説明可能で透明性を担保した評価手法が望まれる。

例えば、アニリン(PhNH_2)を基準とした芳香族アミン(ArNH_2)のニトレニウムイオン(ArNH^+)の安定性を評価する相対エネルギー-ddE

$$\text{ddE} = \Delta E_{\text{ArNH}^+} + \Delta E_{\text{PhNH}_2} - \Delta E_{\text{ArNH}_2} - \Delta E_{\text{PhNH}^+}$$

を計算し、アニリンよりもニトレニウムイオンとして閾値よりもエネルギー的に安定 ($\text{ddE} < -5 \text{ kcal/mol}$) ならば Ames 変異原性を有する懸念が高いことになり、いくつかの条件を加えて変異原性の指標として提案がされてきた (Muto S et al. Genes Environ. **46** 24, 2024)。さらに、これまでの研究では量子化学計算に基づきニトレニウムイオンの安定性を評価する手法 (Furukawa, A. et al. Genes Environ. **44** 10, 2022) が統合計算システム MOE (Molecular Operating Environment, Chemical Computing Group Inc.) の Scientific

Vector Language (SVL) スクリプト (mut_nitre.svl) を用いて、ルーチン的に適用可能な提案がなされている。

本研究課題では、初期化学反応に基づく透明性の高い手法の開発の第一段階として、OECD QSAR Toolbox (<https://qsartoolbox.org/>) に CAS 番号と SMILES リストが存在する METI Japan インベントリデータの物質（化審法化学物質に対応）を対象として、得られる Ames 試験結果を学習セットとして、量子化学計算で得られる相対エネルギー値と部分構造情報を考慮にいれたバイナリモデルを提案し、その有効性と問題点について議論を行う。そして、行政判断材料に資するモデルの構築を目指す。

B. 研究方法

1. 研究対象とする芳香族アミン構造は、QSAR Toolbox v4.6のMETIインベントリデータから、Ames/QSARを用いて評価可能なSMILESを有する890物質を抽出した。
2. 890物質のうちQSARツールボックスにAmes変異原性データ（ツールボックスのデフォルト設定ではダウンロードできないECHA REACH databaseのデータを除く）が存在する207物質を学習セットとして

使用した。

3. 890物質から学習セットの207物質を除いた物質のうち、MultiCASE社ソフトウェアCASE Ultra 1.9.0.4のAmes変異原性予測モデルGT1_BMUT 1.9.0.2で陽性または陰性であることが既知 (Known PositiveまたはKnown Negative)なデータおよび米国NTP<<https://ntp.niehs.nih.gov/>>、米国CompTox<<https://comptox.epa.gov/dashboard/>>で陽性・陰性の結果が入手可能なAmes試験データ結果が含まれる含む88物質をテストセットとして使用した。

4. 学習セットとテストセットのddEを計算統合システムMOEのSVLを用いて計算した。更に、構造的特徴 (芳香族炭素にSO₂が結合した構造:cSO₂と記載; および芳香族炭素にニトロ基が結合した構造:cSNO₂と記載; 芳香族アミンのアミノ基のオルト位置が両方とも水素の構造) について、MOEを用いて抽出・分離後、学習セットに対し、分子量(MW)とddEを用いてMOE 2022.02バイナリモデルジェネレーターを使用してバイナリモデルを構築した。更に、テストセットを用いてバイナリモデルの評価を行った。

更に、既存の統計ベース、ルールベースのQSARでは判定が困難と考えられる芳香族アミン① Diabeton (CAS RN 394-31-0)② 4-Cyclohexylaniline (CAS RN 6373-50-8)③ 5-Amino-1H-imidazole-4-carbonitrile (CAS RN 5098-11-3)のAmes実試験を実施した。被験物質の純度・用いた溶媒や構造、闘鶏ベースとルールベースのQSAR予測結果は表1の通りである。Ames試験は、OECD テストガイドライン471に準拠した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プレインキュベーション法で実施した。最高用量を5 mg/plateとした用量設定試験の結果をもとに本試験を実施し、2回の試験試験実施で再現性の担保を図った。

(倫理面の配慮)

本研究では動物を用いた実験は実施しない。

C. 研究結果

収集した学習セット 208 物質のうち陽性は 118 物質、陰性は 90 物質であり、テストセット 88 物質のうち陽性は 35 物質、陰性は 53 物質であった。

図1にddEで陽性の閾値を $-\infty$ から $+\infty$ に変化させた偽陽性率と偽陰性率の変化であるReceiver Operating Characteristic (ROC) 曲線を示した。青で示したのが、学習セットの208物質での評価結果

であり、ランダムモデルのROCである $y=x$ (赤線)に近い。図1に示すように、置換基の構造的な特徴を加味することで、ROCが描くカーブの下の面積が高くなり、表2で示すように統計データのうち感度・特異度・精度・F1スコアなどMCC以外全てが0.8以上という高い性能の結果が得られた。

学習セットを用いて構造的な特徴にddEを加味して構築した評価スキーム案と物質数・陽性の割合は図2、学習セットで構築したバイナリモデルでの陽性・陰性分岐の割合は図3に示す。統計量は表2に示した通り、ddE= -5 kcal/molで構造的な特徴を加味しない場合と比較すると学習セットの感度が0.89と軒並み改善したが、特異度と精度はそれぞれ0.63と0.76と低下した。テストセットについては、ddE= -5 kcal/molで構造的な特徴を加味しない場合と比較すると評価スキーム案では特異度以外の指標が向上した。

Ames試験結果は図1に示すように、① Diabetonと③ 5-Amino-1H-imidazole-4-carbonitrileは陰性、② 4-Cyclohexylanilineは比活性値が1,000倍以上の強い陽性を示した。①~③はcNO₂とcSO₂の構造を有しない。②はオルト位置の両方が水素であった。このことから、図2のスキームでは①と③はddEで判定、②はオルト位置の水素を基に判定を行い、①は陰性、②と③は陽性の予測となった。

D. 考察

今回対象とした3種類の構造的な特徴を有する物質を評価対象外とするとddEの評価が著しく改善することから、これらの構造を有する物質はddEの値だけでは評価するのが難しい構造であると考えられる。また、化学反応的には以下の様に反応性に寄与すると考察できる。第一に、芳香族スルホン基を有する芳香族アミンcSO₂は電子吸引性スルホン基 -SO₂H のように非変異原性 (不活性化) 特性がある可能性を有する。第二に、芳香族ニトロ基を有する芳香族アミンcNO₂は、電子吸引性基であり、c-NHOH に還元され、ニトレンウムイオンが生成され、変異原性特性として知られている。最後に、オルト位水素の置換基である芳香族アミンは、DNA付加体を介して反応する構造的障害がないため、これは変異原性 (活性化) 特性であると考察でき、三島らの研究の表5で考察されている (Muto S. et al. *Gene s Environ.* **46** 24, 2024)。三島らの論文での評価スキーム (Fig 5) では分子量の加味があったため、バイナリモデルの構築では分子量を加味したが、今

回は記述子として選択されなかった。

3種類の構造的な特徴を有する物質を評価対象外とするとモデルの適用範囲が低くなるが、バイナリもモデルで判断することにより、直観的で適用範囲を広げたモデルを構築することが可能であった。また選択されたddEの値(-6.62 kcal/mol)はこれまでの研究でのddEの最適値(-5 kcal/mol)からも妥当な値であった。感度が高く、行政判断に資する評価につながることを期待できる初期化学反応を加味したバイナリモデルの提案につながると考察される。

今後の課題は、スキームでの評価がうまく行えなかった構造の考察である。例えばAmes試験を実施した図1の③5-Amino-1H-imidazole-4-carbonitrileについては、ヘテロ環やシアノ基を有する芳香族アミンであり、これらの構造的なルールを検証することが挙げられる。③の物質は、ddEの値が-6.91 kcal/molと閾値に近く、判断が厳しい物質に該当していることも実試験とddEの予測値が一致しなかった理由としては考察できる。その一方で、既知の情報としてオルト位またはパラ位にシアノ基が結合した芳香族アミン(アニリン)である*o*-Aminobenzonitrileと*p*-AminobenzonitrileはAmes試験陰性、メタ位にシアノ基が結合した*m*-AminobenzonitrileはAmes試験で陽性の報告(Thompson et al. Environ. Mutagen. 5 803, 1983)や、オルト位にシアノ基が結合した芳香族アミン(アニリン)が強くdeactivatingする効果があることを示した表(Fig 5, Ahlberg et al. Regul. Toxicol. Pharmacol. 77 1, 2016)も存在し、経験的にオルト位置のシアノ基がAmes試験の活性を下げる傾向があることが示唆されていた。

E. 結論

化審法に基づき化学物質として収載されているOECD QSAR ToolboxのMETI Japanデータを用いて、芳香族アミンのAmes変異原性評価スキーム案を提案した。量子化学計算により得られたエネルギー値ddEと構造的な特徴(いわゆる構造活性相関)を組み合わせた直観的なスキームにより、予測の感度を得にあげることができることを示した。また、今回用いた学習セットでは、これまでの研究で提案されていたddE = -5 kcal/molと比較しても妥当なカットオフ値であることが示された。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

(発表誌名・頁・発行年等も記入)

1. Muto S, [Furuhamu A](#), Yamamoto M, Otagiri Y, Koyama N, Hitaoka S, Nagato Y, Ouchi H, Ogawa M, Shikano K, Yamada K, Ono S, Hoki M, Ishizuka F, Hagio S, Takeshita C, Omori H, Hashimoto K, Chikura S, Honma M, Sugiyama K, Mishima M. 2024. Local QSAR based on quantum chemistry calculations for the stability of nitrenium ions to reduce false positive outcomes from standard QSAR systems for the mutagenicity of primary aromatic amines. *Genes Environ.* **46**, 24.
2. [Furuhamu A](#), Sugiyama K, Honma M, 2025. Ames mutagenicity of 15 aryl, benzyl, and aliphatic ring *N*-nitrosamines. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* **156**, 105763.

2. 学会発表

1. [Furuhamu A](#), Sugiyama K, Honma M: Ames mutagenicity investigation of aromatic, cyclic and their related *N*-nitrosamines, 55th Annual Meeting of The Environmental Mutagenesis and Genomics Society(2024年9月10日米国パームスプリングス) 口頭発表
2. [古濱彩子](#), 亀山暁子, 三島雅之, 杉山圭一, 本間正充: 化学物質審査での活用を目指した芳香族アミンのAmes変異原性評価手法の提案, 日本環境変異原ゲノム学会第53回大会(2024年12月7日岡山) ポスター発表

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

該当なし

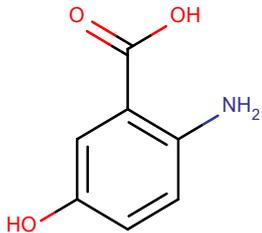
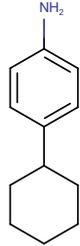
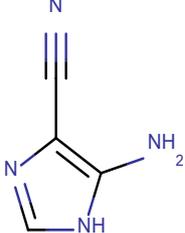
2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

表1 Ames試験実施結果とQSAR*ならびに評価スキーム案での予測結果

名称	① Diabeton (CAS RN 394-31-0)	② 4-Cyclohexylaniline (CAS RN 6373-50-8)	③ 5-Amino-1H- imidazole-4-carbonitrile (CAS RN 5098-11-3)
構造			
統計ベースQSAR CASE Ultra 1.9.2.1 GT1_BMUT1.9.2.0. 15535.450	Positive (79.6%)	Inconclusive (45.8%)	Negative (29.4%)
ルールベースQSAR Derek Nexus: 6.4.1 (Nexus: 2.7.2)	INACTIVE	INACTIVE	PLAUSIBLE
相対エネルギー値 ddE (kcal/mol)	-2.78	-9.14	-6.91
分子量	153.1	175.3	108.1
cNO2を有する	No	No	No
cSO2を有する	No	No	No
オルト位置両方水素 スキームでの予測	陰性	陽性	陽性
Ames試験結果	陰性	強い陽性(+S9 TA100, +S9 TA98)	陰性
Ames試験溶媒	DMSO	DMSO	DMSO
Ames試験試薬純度(%)	95	99.99	98

*ルール（知識）ベースQSARモデルのDEREK Nexus（Lhasa Limited社（英国））、及び統計ベースQSARモデルCASE Ultra GT1_BMUTモジュール（MultiCASE社（米国））を用いたQSAR評価をおこなった。ddEを用いたスキームは図2を参照のこと。

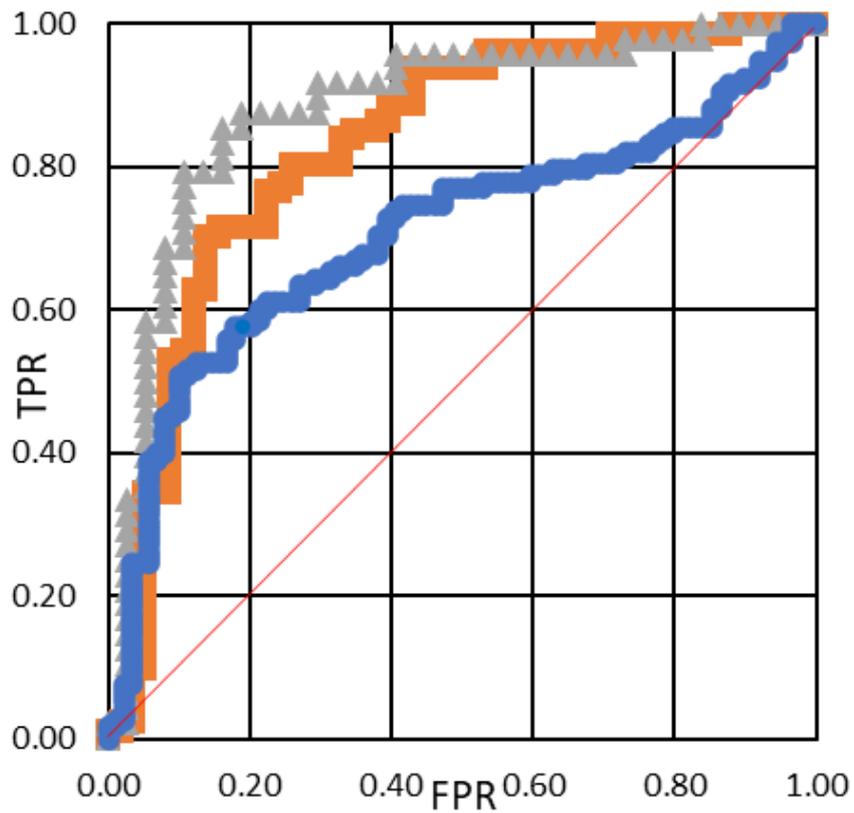


図1 ddEの閾値を変化させることにより得られた学習セットに対するReceiver Operating Characteristic(ROC) 曲線

横軸:偽陽性率(False Positive Rate, FPR) 縦軸:新陽性率(True Positive Rate, TPR)

●:学習セット208物質の芳香族アミン、■:学習セットのうちcNO₂とcSO₂のいずれか/両方の部分構造を持つ物質を除いた139物質、▲:学習セットのうちcNO₂とcSO₂のいずれか/両方の部分構造を持つ物質を除き、更に芳香族アミンのアミノ基のオルト位置に水素を有する物質を除いた85物質。

表2 ddEの閾値ならびに評価スキーム案での統計量*

データセット	ddE の閾値 -5 kcal/mol			評価スキーム案	
	学習	学習 (構造的 特徴加味)	テスト	学習	テスト
物質数	207	85	88	207	88
感度	0.58	0.85	0.51	0.89	0.71
特異度	0.82	0.81	0.68	0.63	0.60
精度	0.81	0.85	0.51	0.76	0.54
バランス精度	0.59	0.81	0.68	0.81	0.76
陽性適中率	0.68	0.84	0.61	0.78	0.65
陰性適中率	0.70	0.83	0.60	0.76	0.66
MCC	0.40	0.66	0.19	0.55	0.31
F1スコア	0.67	0.85	0.51	0.82	0.62

*構造的な特徴を加味した学習セットは、cNO₂とcSO₂のいずれか/両方の部分構造を持つ物質を除き、更に芳香族アミンのアミノ基のオルト位置に水素を有する物質を除いた85物質に該当。評価スキーム案は図2，図3での陽性・陰性予測に対して評価した結果に相当

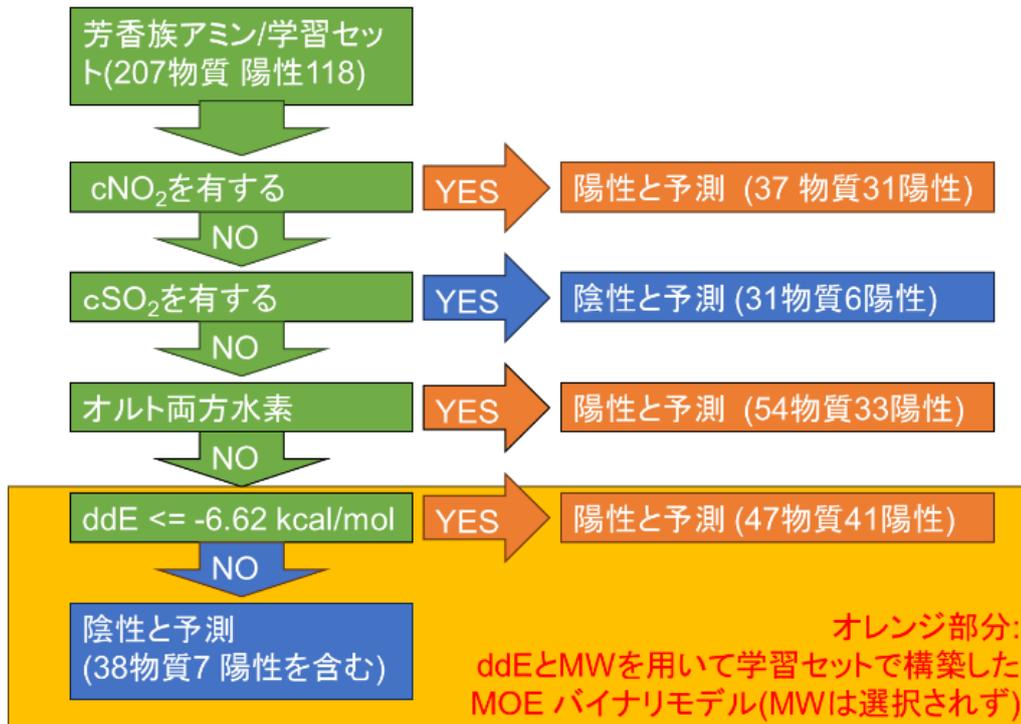


図2 学習セットを用いて構造的な特徴にddEを加味して構築した評価スキーム案

s

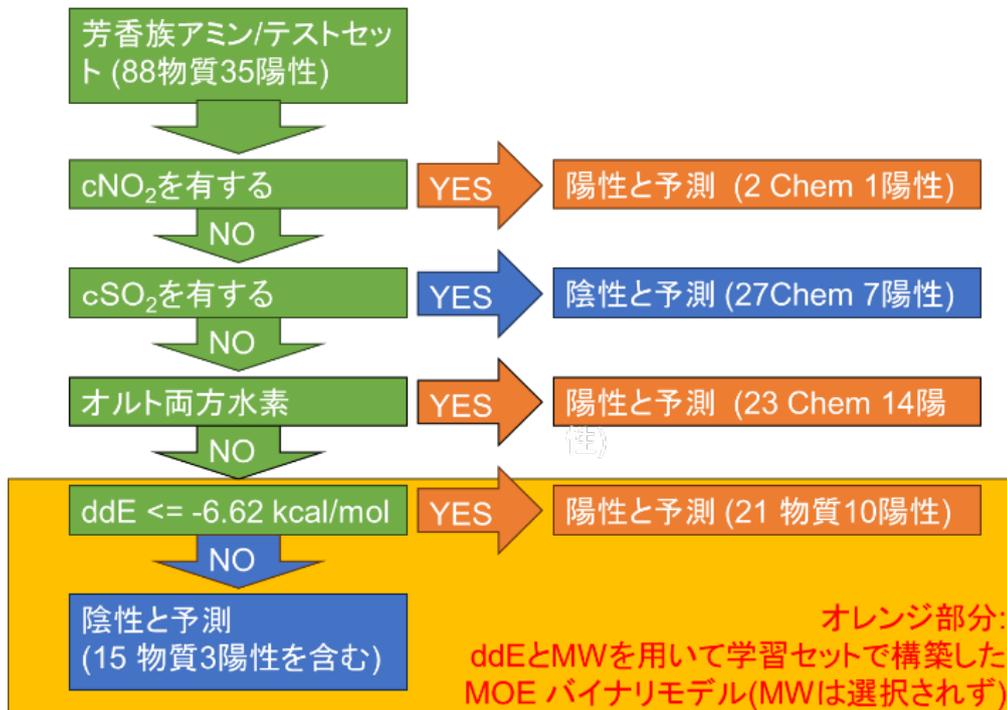


図3 学習セットを用いて構築した評価スキーム案をテストセットで評価した結果

分担研究課題名： 深層学習による QSAR モデルの深化に関する研究

研究分担者 水野忠快 東京大学 助教

研究要旨

本研究では、深層学習を用いてQSARモデルを深化することを目的としている。深層学習モデルのQSAR応用としては、分子構造をグラフや文字列表現として入力して化合物構造を扱うニューラルネットワークの研究が急速に拡大している。一方、毒性予測モデル分野において、モデル構造の整理や評価指標の統一といった体系的な整備が進んでおらず、まずは分野横断的な知見の集約が求められている。

そこで2024年度の本研究では、深層学習による毒性予測に関する文献サーベイを行い、研究領域の全体像と課題の明確化を試みた。PubMedおよびプレプリントサーバーarXivから2015年以降に発表された論文を収集し、タイトルと要旨に基づいて、「研究論文であり、分子構造のグラフまたは文字列表現に基づく深層学習モデルを用いて、ヒトに関係する毒性あるいは毒性関連アッセイの予測を行っている」論文に絞り込んだ。

最終的に155件の論文が抽出され、そのうち63件がグラフやSMILES表記を入力とする深層学習モデルを採用していた。入力形式とモデル構造は図1に示す通りであり、グラフを用いるモデルは、例外2件を除き、すべてMessage-Passing型のアルゴリズムに基づいていた。SMILESを入力とするモデルは、事前学習を行ったEncoderからの転移学習形式、またはEnd-to-Endで構成されるものに大別された。

予測対象は、臨床毒性ではなく、主に前臨床段階の毒性関連アッセイ結果であり、これは利用可能な大規模データセットの整備状況を反映していると考えられる。また、論文数は年々増加しており、特に2023年以降は、ChatGPTに代表される大規模言語モデルの登場以後の技術波及により、急増している傾向が確認された。一方で、不均衡データに対してAUROCのみで性能評価を行う、あるいは評価指標の誤記・誤用といった統計的な問題も複数の論文で見受けられた。これらは、モデルの信頼性や再現性の観点から課題である。

2024年度での本研究は、深層学習による毒性予測という研究領域の現状と傾向を明らかにするとともに、今後の研究展開に向けた課題の洗い出しを目的とした。現時点では、モデル開発および性能評価の妥当性確保に向けたリテラシー向上が急務であり、分野横断的な基盤整備が求められる。

A. 研究目的

創薬のさらなる効率化と低コスト化が求められる中、機械学習技術を応用した毒性予測への期待が急速に高まっている。特に近年では、分子構造を表現するグラフやSMILESといった文字列表現を入力とするニューラルネットワークに基づいた深層学習手法が急速に進展しており、情報科学を中心とした分野において、化合物を対象とする機械学習モデルの研究開発が活発に行われている。

こうした状況を踏まえ、本分担課題では、深層学習を活用した QSA モデルの深化を通じて、毒性予測の信頼性と有用性を高めることを目的とする。研究開始当初は、医学薬学領域における深層学習を応用した毒性予測モデルに関して、モデル構造の整理や入力形式の体系化といった基本的な情報の整備が十分に進んでいない状況であった。そこで2024年度の研究では、まず深層学習を活用した毒性予測に関する学術的知見の収集と現状把握を目的とし、包括的な文献調査を実施することとした。

B. 研究方法

まず医学論文データベースPubMedとプレプリントサーバーarXivから下記の検索クエリで2015年以降の論文を取得した。

Query: (drug / chemical) & (toxicity) & (neural network / deep learning) & (graph / SMILES / strings)

次にタイトルと要旨から、「研究論文であり、グラフ、または文字列表現由来の記述子を利用した深層学習モデルを用いて、人間に関係する毒性、並びに毒性関連アッセイ結果の予測を行っている」ものに絞り込んだ。候補論文を対象に内容、特にモデルへの入力形式やモデルの種類、予測対象や評価指標等を確認し、収集した。

(倫理面の配慮)

本研究では動物を用いた実験は実施しない。

C. 研究結果

最終的に155件の論文が抽出され、そのうち63件がグラフおよびSMILESを入力とした深層学習モデルを用いた毒性予測を行っていた(図1)。これらの論文における入力形式とモデルの種類に関する分析を行った結果、グラフを用いるモデルのほとんどが、例外的な2件を除いてすべてMessage-Passingアルゴリズムを基本構造として採用していた。グラフニューラルネットワークにおいては、同一層で繰り返し情報集約を行うRecGNNではGRUを活用したGGNNが用いられていた。一方、異なる層で集約を進めるConvGNNでは、2020年以前はGCN (Kipf et al., 2017) の利用が主流であったが、それ以降はGIN (Xu et al., 2019) やChemprop (Yang et al., 2019) に代表されるD-MPNNなど、モデルの多様化が進んでいた。中でも集約時にattention重みを導入するGAT (Velickovic et al., 2017) の使用頻度が高く、近年の注目を集めていることが明らかとなった。

SMILESを入力とするモデルにおいては、GRUやLSTMといったRNNに加えて、並列計算が可能なTransformer (BERTを含む) や1D-CNNなど、多様なアーキテクチャが使用されていた。これらのモデルは、学習形式に基づいて、対象データのみでモデル構築を完結するEnd-to-End型と、大規模な化合物データベースで事前学習したEncoderに予測器を接続し、転移学習 (Encoderの重みを固定したfreeze学習またはfine-tuning) を行う型に大別された。後者では予測器にニューラルネットワークだけでなく、ランダムフォレストなどの古典的機械学習手法を併用する事例も確認された。

また、グラフおよびSMILESの両方を活用するマルチモーダル型モデルも一定数存在しており、それぞれの表現によって抽出された特徴ベクトルを結合し、場合によっては次元削減を行った上で予測器に入力する構成が一般的であった。

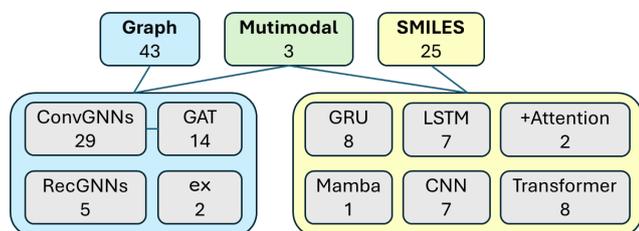


図1. モデル種別

性能評価指標についてまとめる(図2)。予測手法としては2値分類が主流であり、63件中59件が該当した。分類モデルの評価にはAUROCおよびaccuracyが多く用いられていたが、これらの指標はクラス不均衡に対して過大評価されやすく、実際にAUROCの

みによって性能を報告している論文が17件確認された。特に少数クラスが10%以下である場合に、これらの指標はモデルの性能を適切に評価できないことが知られており、MCC (マシューズ相関係数) など、陽性・陰性双方の予測性能を反映する評価指標の利用が望まれる。毒性予測は創薬初期のスクリーニング段階で用いられることが多く、毒性のある化合物を取りこぼさずに検出することが重要である。その意味で、sensitivityの使用頻度が高かったことは妥当であり、続いて多く用いられていたF1-scoreも、precisionとsensitivityのバランスを取った実用的な指標であるといえる。

一方、回帰モデルについては4件に留まっていたが、 R^2 (決定係数) が主要な評価指標として用いられていた。学習時に損失関数として用いられるRMSEやMAEをそのままスコアとして報告する事例も多く見られた。なお、線形回帰においてはピアソンの相関係数Rの二乗が R^2 と一致するが、非線形性を持つ深層学習モデルでは一致しない点に注意が必要である。16件の R^2 を報告する論文のうち、 R^2 を「決定係数」と明示したのは1件のみであり、その他は「ピアソンの相関係数Rの二乗」として記載していた。また、Rの二乗であるにも関わらず、負のスコアが示されている論文も存在し、評価指標の取り扱いに関するリテラシーの向上が研究の信頼性を確保する上で喫緊の課題である。

Classification	59
AUROC	46
AUPRC	8
Accuracy	29
Balanced Accuracy (BA)	10
Sensitivity (Recall · TPR)	25
FNR (1-TPR)	1
Precision (PPV)	17
Specificity (TNR)	11
FPR (1-TNR)	2
NPV	1
F1	21
MCC	18
Regression	21
R^2	16
R (Spearman · Pearson)	3
RMSE	9
MAE	9

図2. 評価指標の分布

予測対象としては、「毒性関連バイオアッセイ結果 (31件)」と「毒性試験・臨床毒性 (35件)」に大別された。前者ではTox21やToxCast、hERGなど、多数のアッセイ結果を含む大規模なデータセットが利用されており、対象とするアッセイ数も多かった。後者では、肝毒性や心毒性、変異原性、生殖毒性、LD50など、対象が一種であるケースが多く、データセットの入手が容易でないことから、複数のデータベースを組み合わせた独自データセットの構築が多く見られた。同一名称のデータセットであっても出典が異なることで化合物数に相違があることも確認され、たとえばClinToxデータセットではMoleculeNetでは1484件、TDCでは1478件の化合物が登録されていた。出典を明記していない論文も一部存在し、再現性の確保のためにはデータセットの明示と統一的な取り扱いが不可欠である。

D. 考察

発表年別の論文数を見ると、近年の深層学習の普及とともに関連研究が急増している。特に2023年以降に顕著な増加が認められており、ChatGPTなど大規模言語モデルの一般公開など深層学習の認知度との関連も考察される⁽¹⁾。一方で、不均衡データに対してAUROCのみで性能評価を行うなど、統計学的に不適切な指標の使用や記述の誤りも散見された。

また対象論文の約半数が開発したモデルをGitHub等で公開していたが、残る半数以上はモデル非公開であった。中にはユーザー利便性を考慮してウェブアプリケーションとして提供している例もあったが、公開から1年未満でアクセス不能となっているケースもあり、持続可能な情報公開の在り方が課題として浮かび上がった。

E. 結論

本研究では、深層学習を用いた毒性予測に関する学術文献の包括的なサーベイを通じて、研究領域の現状と課題を明らかにした。活発な研究開発が進む一方で、性能評価指標の誤用やデータセットの不統一、再現性の欠如といった問題点も明確となった。今後、深層学習モデルの信頼性と妥当性を担保するためには、予測対象に応じた適切な評価指標の選定、データ出典の明示、ならびに研究者間のリテラシー共有が不可欠である。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

(発表誌名・頁・発行年等も記入)

なし

2. 学会発表

1. 第7回医薬品毒性機序研究部会、李澤昇、水野忠快、根本駿平、楠原洋之、“医学薬学領域における深層学習を用いた化合物毒性予測研究の現状と課題”, 2025/1/8, グランシップ静岡, 静岡
2. 日本薬学会第145年会、李澤昇、水野忠快、根本駿平、楠原洋之、“深層学習を用いた化合物毒性予測モデルのサーベイと体系化”, 2025/3/27, マリンメッセ福岡, 福岡

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

令和6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）

研究課題名：
化学物質管理のための *in silico* 毒性予測の利用推進と
統合的リスク評価の基盤構築に関する研究（24KD2004）

分担研究報告書

反復投与毒性及び生殖発生毒性を対象とした
NAM を活用したリードアクロスの高度化に関する研究

研究分担者	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
研究協力者	城島 光司	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	丸山 多恵子	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	山本 繁史	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	Alun Myden	ラーサ研究所		研究員
研究協力者	Victor Ude	ラーサ研究所		研究員
研究協力者	Jade Jones	ラーサ研究所		研究員

研究要旨

生殖発生毒性や反復投与毒性などの複雑な毒性予測を含むヒト健康リスク評価の基盤を構築するため、リードアクロスの信頼性向上と高度化へ向けて、New Approach Methodology (NAM) 手法を取り入れた統合的アプローチの開発に向けた研究を行った。

令和6年度は、OECD IATA Case Study の開発に適切な物質クラスターとシナリオの調査を行った。生殖発生毒性については、動物試験データセットや有害性発現経路 (AOP) ネットワークの探索により、生殖発生毒性に関連する物質クラスターを同定した。これらのクラスターについてさらに調査を進め、ケーススタディに適したクラスターを2つ同定した。いずれも、生殖発生毒性とグルタチオン枯渇に関連していた。また、これらの物質の評価目的に適合する NAM 手法の探索、選別を進めた。

反復投与毒性については、先行研究にて検討してきた、共通あるいは類似の解毒代謝を有する可能性が高い低毒性の物質群から、ケーススタディに使用できるクラスターの選定を行った。毒性発現と代謝の関係性を説明することを目指し、*in vitro* ADME 試験手法を調査・選定し、*in vitro* ADME 試験を試行した。

A. 研究目的

本研究は、反復投与毒性及び生殖発生毒性を対象としてリードアクロスを実施し、

NAM により精緻な予測を実現することを目指している。

反復投与毒性は、化学物質安全性評価における主要な毒性エンドポイントのひとつである。市場に流通する多数の未評価の化学物質について、その毒性評価を加速化させることが求められている。また、生殖発生毒性は、化学物質の次世代影響を対象としており、医薬品、農薬など幅広い分野において、安全性評価に必須項目とされているが、試験には多数の動物個体が必要となる。いずれの試験も時間的・経済的コストの低減が求められており、また近年高まってきている動物福祉の観点などから、段階的な動物試験の削減は不可避である。そこで、代替アプローチの開発と、予測の不確実性を考慮した評価方法の確立およびその適用範囲の拡大が求められている。

一方で、反復投与毒性や生殖発生毒性のような複雑なエンドポイントの予測については、単一の定量的構造活性相関 (QSAR) の適用は困難であり、OECD や欧米の規制行政機関では、試験と評価のための統合的アプローチ (IATA) の開発が進められている。IATA とは、既存文献、QSAR、リードアクロス、New Approach Methodology (NAM) などの複数のタイプの情報を統合して評価を導くものである。NAM は、有害性評価の文脈において、トキシコキネティクス (TK) やトキシコダイナミクス (TD) 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。

我々はこれまで、化学物質の毒性情報を網羅的かつ容易に検索し解析することができるようにするため、国内外で公開されて

いる毒性試験データを可能な限り統合してデータベース化し、反復投与毒性試験を対象とした NIHS 統合 DB および生殖発生毒性試験を対象とした DART NIHS DB を構築した。そして、IATA に基づくリードアクロスの適用範囲の拡大を目指して、有害性発現経路 (AOP) に基づくカテゴリーの構築に取り組み、その成果を積み重ねてきた。

R6 年度は、OECD IATA Case Study の開発に適切な物質クラスターとシナリオの調査を目的とした。反復投与毒性および生殖発生毒性両方を対象としたが、より注意深い解析を必要とする生殖発生毒性により多くのリソースをかけた。生殖発生毒性については、AOP ネットワークの探索により、反復投与毒性については、先行研究にて検討してきた、共通の解毒代謝機構を有する可能性が高い低毒性の物質群から、ケーススタディに使用できるクラスターの選定を行った。また、評価目的に適合する NAM 手法の探索、選別を進めた。R7 年度以降は、NAM 手法の選別とデータ取得を進め、それらの組合せによりそれぞれの毒性エンドポイントを予測するケーススタディを実施し、NAM を活用した統合的アプローチの優位性を検証し、他の事例に展開できるように留意点を取りまとめることを目指している。

B. 研究方法

生殖発生毒性ケーススタディ候補物質クラスターの解析

先行研究で使用してきた欧州化学品庁 (ECHA) REACH データセット、国立衛研が構築し公開している TG422 / TG421 データセット、先行研究で構築した NIHS 統合 DB より別途作成した精巢毒性データセ

ットを対象に、生殖発生毒性 (DART) ケーススタディの候補となる物質クラスターを探索した。先行研究で構築した DART AOP ネットワークに関連する Derek 構造アラートやアッセイデータを参照し、AOP ネットワークに対して意義のある Derek 構造アラートに関連する物質、または AOP における MIE (Molecular Initiating Event) と KE (Key Event) のアッセイデータで陽性を示す物質を対象にクラスタリング解析を行った。

反復投与毒性ケーススタディ候補物質群の解析

先行研究で検討してきた低毒性物質群のうちエチレンおよびプロピレングリコールアルキルエーテル類を対象として、NIHS 反復投与毒性試験統合 DB および OECD QSAR Toolbox、PubChem を用いて化学構造と物理化学的性状、代謝、*in vivo* 毒性情報を整理し、毒性の強さに影響する要素を抽出した。さらに *in vitro* ADME 情報を取得することを検討した。

(倫理面への配慮) 本研究は動物及びヒト試料等を用いた研究を行わないため対象外である。

C. 研究結果

生殖発生毒性ケーススタディ候補物質クラスターの同定

DART AOP ネットワークを用いた候補物質群のスクリーニングにより、さまざまな化学物質を同定することができた。これらの物質が最も高頻度に関連づけられた経路は、グルタチオン枯渇経路とミトコンド

リア毒性経路であり、いずれも我々の先行研究の中で AOP として提案したものである。他には、ステロイド関連経路 (アンドロゲン/エストロゲン受容体関連経路など) も高頻度で見られた。

得られた DART AOP 関連物質について、独自のクラスタリングツールとフラグメント化法 (CERES 2_CO) を用い、類似性の閾値を 80% に設定して、Butina に基づく化学的クラスタリングを行ったところ、4 以上の物質を含む 17 のクラスターが生成された。これらのクラスターについて個別に確認し、DART 陽性物質が 1 または 0 のクラスターは DART への関連性が低いと考えられるので、対象外とした。以上から、2 物質以上が DART 陽性を示す 10 クラスターが得られた (表 1)。

これらのクラスターに優先順位をつけるため、それぞれのクラスターについて、毒性データ、機序に関するデータや最新の論文を調査したところ、クラスター 4 は近年の何報か研究があることから、また、クラスター 5 および 6 は、物質数、構造の多様性、活性の広がり観点から、優先順位をさげることとした。残る 7 クラスターについてさらに精査を進めた。

クラスター 1 (アルキルフェノール)

グルタチオン枯渇 AOP とミトコンドリア機能障害 AOP の両方に関連があるものとして同定された。さらに、幾つかの物質は AOP ネットワークの MIE アッセイの結果が陽性であった。これらの MIE のうち、4 つはステロイドシグナル伝達経路に関連していた。このクラスターは、陽性物質が 11、陰性物質が 7 と、バランスよく含まれてお

り、さまざまな置換フェノール構造を持つ。このクラスターに含まれる多くの物質について、エストロゲン受容体活性を予測する論文が発表されていた。そのため、このクラスターについては、優先順位を下げることにした。

クラスター2 (フタル酸エステル)

クラスター1 同様、陽性物質と陰性物質がどちらも多く含まれるクラスターである。しかし、このクラスターに含まれる物質とその代謝物について論文や総説が発表されており、生殖発生毒性プロファイルに基づくグループ化なども報告されていた。そのため、このクラスターについては、優先順位を下げることにした。

クラスター3 (ペルオキシエステル)

このクラスターの物質のほとんどが、主要代謝物 tert-ブチルヒドロペルオキシド (TBHP) を介して毒性を示すことがあると考えられた。DART 研究では、TBHP は雄における不妊を誘発し、酸化ストレスを介して雌の生殖能力を損なうことが報告されている。

クラスター7 (クミルペルオキシド)

ECHA ウェブサイト上のレビューには、このクラスターの物質は多くの場合、混合物で、一般特性を示し、生殖毒性データは限られると書かれている。また、陰性となる原因が不明であることから、ケーススタディには適さないと考えられる。

クラスター8 (ベンゼンプロパン酸誘導体)

このクラスターの物質についてリードア

クロスを行った研究はないが、このクラスターの1 つについて、環境中運命、ヒトへの曝露や毒性の評価を試みた文献が1 報ある。ケーススタディの候補となるかについては適合性をさらに精査する必要がある。

クラスター9 (アルキルクロリド)

このクラスターの物質についてリードアクロスを行った研究はない。ケーススタディの候補となるかについては適合性をさらに精査する必要がある。

クラスター10 (ニトロ芳香族類)

先行研究で AOP を作成した際に、グルタチオン枯渇に関連する酸化ストレスを引き起こしうるニトロ芳香族物質を捕捉できるアラートを3 つ特定した。これらのアラートは、グルタチオン枯渇 AOP の作成に寄与した物質クラスターを含め、データセット内のニトロ芳香族物質の大きなクラスターを同定することができた。これらのニトロ芳香族物質は発生毒性、生殖発生性の両方において、さまざまな活性を示す。置換基のパターンが活性を決定することがあるため、これらの物質の活性カテゴリーを定義することができる可能性がある。ただし、このクラスターの物質は肝臓や血液などの一般毒性を示す可能性がある。その場合、高用量では他毒性の影響が出るため、NOAEL 算出を主目的とした一般・生殖発生毒性併合試験は低用量でしか実施されておらず、精巢毒性が顕在化していないことも考えられる。この点を明らかにするためにはさらに詳細な調査を行う必要がある。

反復投与毒性ケーススタディ候補物質群の

同定

先行研究で、NIHS 反復投与毒性試験統合データベースから抽出した低毒性物質 189 物質について、その化学構造の類似性により 10 のクラスターを抽出した。今年度は低毒性予測の事例研究の新たな対象としてエチレンおよびプロピレングリコールアルキルエーテル類を検討した。

エチレングリコールアルキルエーテルについては、化学構造、特に鎖長と毒性の間により相関性があり、低毒性を示すと考えられる構造領域は、グリコールエーテルの単位が 2 または 3、アルキル基鎖長は 1~4 であった。上記の構造領域内において logP 値および膜透過性パラメータである Peff 値に大きな差異はなかった。主に末端のアルコールがカルボン酸に代謝される。グリコールエーテルの単位が 1 のときは血液、精巣において低用量から毒性影響が現れる。この理由は、主要代謝物（アルコキシ酢酸）が活性体であるためとされている。

プロピレングリコールアルキルエーテルの場合、低毒性を示すと考えられる構造領域は、直鎖型、分岐型いずれもプロピレングリコールエーテルの単位が 1~3、アルキル基鎖長は 1~4 であった。上記の構造領域内において logP 値および Peff 値に大きな差異はなかった。プロピレングリコールエーテルの単位が 1 のときも低用量から毒性影響は観察されず、この理由は活性代謝物であるアルコキシ酢酸が生成されないためである（表 2）。

生理学的薬物動態（PBK）モデルの構築を検討するため、鎖長の異なるエチレングリコールアルキルエーテル 2 物質について、膜透過性、タンパク結合、肝クリアランスの

パラメータ値を *in vitro* 試験により測定を試行した。

D. 考察

本研究は、生殖発生毒性及び反復投与毒性を対象としてリードアクロスを実施し、NAM により精緻な予測を実現することを検討した。

生殖発生毒性に関しては、先行研究で構築していた AOP ネットワークとデータセットから、ケーススタディに用いる候補物質を探索し、生殖発生毒性に関連すると考えられる 10 の物質クラスターを同定した。

各クラスターを検討した結果、クラスター 3（ペルオキシエステル）、クラスター 10（ニトロ芳香族類）がケーススタディの候補として最も有望と考えられる。どちらのクラスターも全体の物質数が多く、陽性物質、陰性物質数も十分にあり、これまでにリードアクロス研究が報告されていないためである。クラスター 1 も候補となる可能性があるが、このクラスターを用いる場合は、エストロゲン受容体活性に関する解析に慎重を期す必要がある。

同定したクラスターの多くは雄性生殖毒性、グルタチオン枯渇 AOP に関連している。来年度以降、ケーススタディを進める際には、既存の精巣毒性 AOP を対象とするか、グルタチオン枯渇と発生毒性を結び付ける新規 AOP の作成を行い、これを対象とするか、検討する必要がある。また、クラスター解析や文献から得られた情報を基に、評価目的に適合する NAM 手法の探索、選別を進めた。

反復投与毒性については、昨年度抽出した低毒性物質群のうち、エチレンおよびプ

ロピレングリコールアルキルエーテル類を対象に、化学構造、物理化学性状、代謝、毒性データを解析した。本解析において定義された構造領域特に鎖長領域においては体内への吸収に大きな差はなく、親物質は毒性が弱いカルボン酸代謝物に速やかに代謝された結果、毒性影響は低くなると考えられた。グリコールエーテル 1 単位の場合は鎖長のわずかな違いが毒性に大きな影響を与える例外ケースであり、全体として両クラスターはリードアクロスの適用可能性は高い。ただし、定義された構造領域を超える鎖長を持つ物質への外挿を行うためにはさらなる情報収集と正当化が必要であり、注意を要する。PBK モデルの構築を想定して試行的に *in vitro* ADME 活性試験を実施したが、試験の実施または分析が困難な物質があることが判明した。来年度は、NAM として他の *in vitro* 試験を調査し、その有用性、本物質群への適用性などを明らかにし、データの取得を進める。

E. 結論

令和 6 年度は、生殖発生毒性については、OECD IATA Case Studies プロジェクトに提出するケーススタディに供する物質クラスターを探索した。先行研究で作成した AOP ネットワークとその際に使用したデータセットを探索し、さらに文献調査を行った結果、クラスター3 とクラスター10 の 2 つのクラスターをケーススタディ候補物質として同定することができた。アラート構造や MIE の情報から、これらが関係する AOP を推定することができた。この情報を基に、評価目的に適合する NAM 手法の探索、選別を進めている。

反復投与毒性については先行研究で検討してきた類似の代謝機構を有する可能性のある低毒性物質のクラスターから 2 つを対象に解析を行い、リードアクロスの適用可能性を検討した。グループ化の信頼性向上に資する NAM として、体内への吸収、代謝物の構造予測と代謝速度が候補として考えられた。

R7 年度以降は、NAM 手法の選別とデータ取得を進め、それらの組合せによりそれぞれの毒性エンドポイントを予測するケーススタディを実施し、NAM を活用した統合的アプローチの優位性を検証し、他の事例に展開できるように留意点を取りまとめることを目指している。

F. 研究発表

1. 論文発表

Yamamoto S, Yoshida K, Matsumoto M, Yamada T. Construction and evaluation of an open-source database for inhalation-based physiologically based kinetic modeling of selected categories for industrial chemicals. *J. Toxicol. Sci.* 2025; 50: 57-68.

Hirose N, Hasegawa S, Umamo T, Murata Y, Iso T, Inoue K, Yamada T, Masumura K, Matsumoto M: Summary information of human health hazard assessment of existing chemical substances (X). *Bull. Natl Inst. Health Sci.* 2024; 142: 63-70.

Ninomiya Y, Watanabe H, Yamagishi T, Maruyama-Komoda T, Yamada T, Yamamoto H. Prediction of chronic toxicity of pharmaceuticals in *Daphnia magna* by combining ortholog

prediction, pharmacological effects, and quantitative structure-activity relationship. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 2024; 282: 116737.

2. 学会発表

古濱彩子, 亀山暁子, 杉山圭一, 山田隆志, 小野敦. 食品健康影響評価における OECD (Q)SAR アセスメントフレームワーク(QAF)に基づく変異原性評価法の検討. 日本薬学会第 145 年会 (福岡, 2025.3.29)

Yamada T, Maruyama-Komoda T, Jojima K, Yamazoe Y, Masumura K. Extracting hepatotoxicity-related insights by expert-driven comprehensive analysis on animal toxicity data: Towards new approach methodologies-based risk assessment. Society of Toxicology 64th Annual Meeting (Orlando, FL, USA, 2025.3.20)

山田隆志. (Q)SAR 予測の信頼性をどのように評価するか? : OECD (Q)SAR 評価フレームワーク(QAF)の概要. 日本動物実験代替法学会第 37 回大会 (宇都宮, 2024.12.1)

Yamada T, Maruyama-Komoda T, Jojima K, Yamazoe Y, Masumura K. Multifaceted data analysis on animal toxicity database for extracting hepatotoxicity-related insights: Towards improved safety

assessment integrating new approach methodologies. 13th Annual Meeting of the American Society for Cellular and Computational Toxicology (Research Triangle Park, NC, USA, 2024.10.28)

Ono A, Akahori Y, Ambe K, Yoshinari K, Yamada T. Evaluation of the Caco-2 permeability assay as NAM, New approach methodologies, for in vivo repeated dose toxicity NOAEL assessment. 58th Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX 2024) (Copenhagen, Denmark, 2024.9.11)

Hayashi T, Fukushima A, Akahori Y, Kawamura T, Yamada T, Hirose A. Identification of chemical categories of E&Ls having PDEs below the proposed threshold of toxicological concern for non-genotoxic chemicals via intravenous (TTCiv). 58th Congress of the European Societies of Toxicology (EUROTOX 2024) (Copenhagen, Denmark, 2024.9.10)

Yamada T, Maruyama-Komoda T, Jojima K, Yamazoe Y, Masumura K. Extracting hepatotoxicity-related insights through analysis on animal toxicity database - Towards improving in silico prediction accuracy. 58th Congress of the European Societies of Toxicology

(EUROTOX 2024) (Copenhagen, Denmark, 2024.9.9)

山田隆志, 丸山(薦田)多恵子, 広瀬明彦.

医薬品の生態毒性評価を支援するデータベースと in silico 予測手法の開発. 第51回日本毒性学会学術年会 (福岡, 2024.7.5)

廣田衛彦, 豊田明美, 畑尾正人, 笛木修,

山田隆志, 伊藤晃成, 小野敦. パネルディスカッション「化粧品の安全性保証の新たな考え方: Next Generation Risk Assessment (NGRA) の行政利用に向けたチャレンジ」. 第49回日本化粧品学会 (東京, 2024.6.29)

G. 知的所有権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表1 データセットから同定された生殖発生毒性に関連する可能性がある物質クラスター

クラスター	名称	発生毒性 分類	精巣毒性 分類	アッセイデータに 基づく MIE 仮説数	Derek アラートに基づく 仮説
1	アルキルフェノール	陽性 11 陰性 7	陽性 3 陰性 12	8	Glutathione (GSH) decrease, Mitochondrial dysfunction
2	フタル酸エステル	陽性 3 陰性 7	陽性 4 陰性 5	4	Testicular toxicity
3	ペルオキシエステル	陰性 3 陽性 5		0	Glutathione (GSH) decrease
5	アルキル酸	陽性 2 陰性 2	陰性 2	3	Glutathione (GSH) decrease
7	クミルペルオキシド	陽性 3 陰性 1	陰性 1	2	Glutathione (GSH) decrease
8	ベンゼンプロパン 酸誘導体	陽性 2 陰性 4	陰性 2	1	Glutathione (GSH) decrease, Mitochondrial dysfunction
9	アルキルクロリド	陽性 1 陰性 1	陽性 1 陰性 5	0	Mitochondrial dysfunction
10	ニトロ芳香族類	陽性 14 陰性 35	陽性 13 陰性 69	0	Glutathione depletion

表2 データセットから同定された反復投与毒性試験における低毒性の可能性がある物質クラスター

クラスター	名称	構造領域		備考
		エーテル (数)	アルキル基 (炭素数)	
1	エチレングリコール アルキルエーテル	2~3	1~4	エーテル数1の場合、活性代謝 物であるアルコキシ酢酸が生成
2	プロピレングリコー ルアルキルエーテル	1~3	1~4	

令和6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）
化学物質管理のための *in silico* 毒性予測の利用推進と統合的リスク評価の
基盤構築に関する研究 分担研究報告書

分担研究課題名：経口毒性評価における PBK モデルの利用に関する研究

研究分担者 国立医薬品食品衛生研究所 安全性予測評価部 第2室長 松本真理子
研究協力者 国立医薬品食品衛生研究所 安全性予測評価部 吉田喜久雄
研究協力者 国立医薬品食品衛生研究所 安全性予測評価部 第2室 村田康允
研究協力者 国立医薬品食品衛生研究所 安全性予測評価部 第2室 馬野高昭
研究協力者 国立医薬品食品衛生研究所 安全性予測評価部 第2室 磯貴子
研究協力者 国立医薬品食品衛生研究所 安全性予測評価部 第2室 若山美智子
研究協力者 国立医薬品食品衛生研究所 安全性予測評価部 第2室 広瀬望

研究要旨

内分泌かく乱化学物質の優先リストのマウス子宮肥大試験の結果を用いて、化学物質の定量的リスク評価に対する *in vitro* - *in vivo* 外挿 (IVIVE) アプローチの適用可能性を評価した。選択された5物質のうち、3物質が子宮肥大試験において陽性のエストロゲン活性を示し、2物質では活性は陰性であった。これらの化学物質は、エストロゲン受容体結合（開始イベント）からタンパク質産生までの5つのキーイベントを調べる 15 の *in vitro* アッセイで活性を示し、生理学的動態 (PBK) モデルを用いて IVIVE 変換係数を導出することが可能であった。カットオフポイント、半最大反応および 90% 反応における活性濃度 (ACC、AC₅₀およびAC₉₀) から外挿された経口等価用量 (OED) を他のキーイベントのOEDと比較し、それらの重なりから *in vivo* での用量-反応関係に大きな影響を与えると予想されるクリティカルなキーイベントを判定した。陽性のエストロゲン活性を示した 3物質については、決定されたクリティカルなキーイベントの *in vitro* AC₅₀値から求めたOEDは、子宮肥大試験で観察された最低影響レベルの2倍以内であった。さらに、活性が陰性であった 2物質のOEDは、子宮肥大試験における最高投与量よりも高かった。これらの結果に基づき、IVIVEアプローチの適用は概ね妥当と評価され、子宮肥大試験やそれ以外の短期の *in vivo* 試験の代替法としての可能性を示唆していると考えられた。しかし、化学物質の定量的リスク評価に IVIVEアプローチを適用するには、*in vivo* での反応に大きく影響するクリティカルなキーイベントを如何にして特定するか等について、さらに検討する必要がある。

A. 研究目的

生活環境中の化学物質の多くについて十分な毒性情報がないためリスク評価が実施されていない現状は化学物質管理における大きな問題であり、国際的な課題となっている。化学物質の人健康リスク評価を効率的に進めるためには、*in silico* 評価手法の開発と行政利用への取り組みが重要である。本研究は、*in silico* 毒性評価手法の開発の一環として、PBK モデルを活用した *in vivo* 毒性予測を行うための基盤を整理することを目的とする。R6 年度は先行研究 (*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)) で収集したデータを基に、

内分泌かく乱化学物質のマウスの子宮肥大に対する *in vivo* の毒性予測 (*in vitro* - *in vivo* 外挿 (IVIVE) アプローチ) を試行し、IVIVE アプローチの適用可能性を評価した。

B. 研究方法

B.1. 検討対象物質の選定

厚生労働省の内分泌かく乱化学物質の優先リスト (未公表) 収載の物質を対象に、以下の3条件を満たす化学物質を抽出した。

- 1) 経口投与によるマウスでの子宮肥大試験が実施されている、
- 2) エストロゲン作用の開始イベントの①ERへの結合から、②受容体の二量化、③二量体のDNA結合、

④RDAへの情報転写を経て、⑤タンパク質産生に至る5つのキーイベントのいずれかを対象とする15の*in vitro*アッセイ（米国ToxCastプログラムで実施）が全てinactiveではない、

3) 生理学的動態（PBK）マウスモデルによる*in vitro* - *in vivo* 外挿（IVIVE）変換係数算出に必要なモデルパラメータ（分子量、オクタノール/水分配係数（log Kow）、血漿タンパク質非結合率（fup）、肝細胞クリアランス（CLint）およびトポロジカル極性表面積（TPSA））が入手可能である。

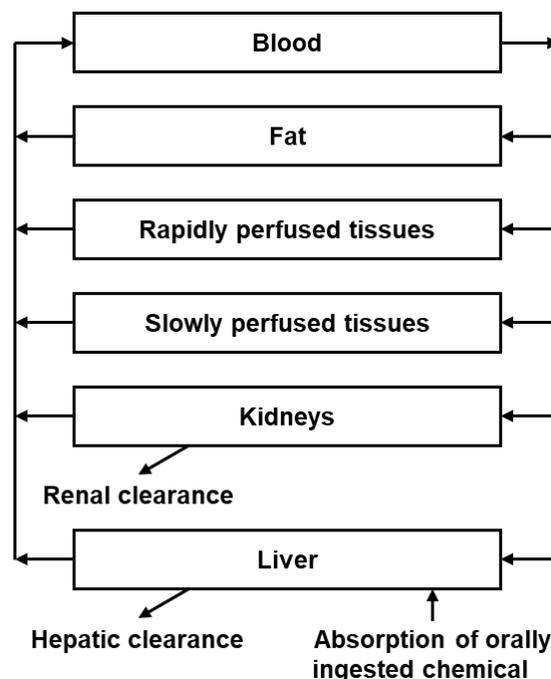
B.2. *in vitro*アッセイデータ

*In vitro*アッセイデータについては、エストロゲン作用の開始イベントのERへの結合からタンパク質産生に至る5つのキーイベントのいずれかを対象とする計15の*in vitro*アッセイでの活性濃度（カットオフポイント濃度（ACC）、50%活性濃度（AC₅₀）および90%活性濃度（AC₉₀））を米国National Toxicology ProgramのIntegrated Chemical Environment（ICE）データベースから取得した。

B.3. マウスPBKモデル

下図に示す血液、脂肪、高血流組織、低血流組織、腎臓および肝臓の6コンパートメントで構成されるPBKマウスモデルを構築し、IVIVE換算係数の算出に使用した。このモデルは、化学物質が消化管から吸収され、肝臓経由で血流により輸送され、各コンパートメントに分配され、また肝臓で代謝され、腎臓から排泄されると想定している。使用するマウスの生理学的パラメータ（体重、各コンパートメントの容積、各コンパートメントへの血流量等）には既報の値を採用した。また、選定した物質に特異的なモデルパラメータは米国Environmental Protection AgencyのCompTox Chemicals Dashboardデータベースおよび医薬基盤・健康・栄養研究所のDruMap Ver1.5から取得した。

構築したPBKマウスモデルについては、経口投与後のビスフェノールA（BPA）の経時的なマウス血清中濃度に関する既報の測定データを用いて、その予測能を検証した。



B.4. IVIVE

PBKマウスモデルを用いて、1 mg/kg/dayで経口投与時のマウス血漿中タンパク質非結合態の最高濃度（C_{max}、μM）を次式で計算した。

$$IVIVE \text{ conversion factor} = \frac{1 \text{ mg/kg/day}}{C_{max} (\mu\text{M})}$$

抽出した各物質について*in vitro*アッセイのACC、AC₅₀ およびAC₉₀ の値からIVIVE変換係数を用いて経口経路の等価用量（OED）を算出し、5つのキーイベント毎の*in vitro*アッセイ由来のOEDの離散一様分布の重なりを連続する2つのキーイベント間で比較することにより、子宮肥大反応にクリティカルなキーイベントを選定した。

選定したクリティカルキーイベントを対象とする*in vitro*アッセイのACCおよびAC₅₀値から外挿したOEDの平均値をOED_{crit}とし、子宮肥大試験における最低影響レベル（LOEL）やベンチマーク用量（BMD）の値と比較することにより、IVIVEアプローチ適用の妥当性を評価した。BMD値の計算には、オランダRIVMのPROAST web application を使用した。

（倫理面の配慮）

本研究では動物を用いた実験は実施しない。

C. 研究結果

C1. 検討対象物質の選定

マウス経口投与試験が実施された内分泌かく乱化学物質の優先リスト内の化学物質の中で、9物質が、ER結合からタンパク質産生に至る5つのキーイ

ベントの各々において2つ以上のアッセイで ACC とAC₅₀ の値が存在した。また、65物質については、物質固有のPBKモデルパラメータが全て入手可能で、PBKモデルによるIVIVE変換係数算出が可能であった。これらの結果から、条件を満たす物質を抽出した結果、5物質が抽出され、これらの物質をIVIVEの検討対象物質とした。5物質中の3物質は子宮肥大試験でエストロゲン作用が陽性で、残り2物質は陰性であった。

物質名	CAS RN	結果
2,2',4,4'-Tetrahydroxybenzophenone	131-55-5	+
Daidzein	486-66-8	+
4-Cumylphenol	599-64-4	+
Heptyl 4-hydroxybenzoate	1085-12-7	-
2-Ethylhexyl 4-hydroxybenzoate	5153-25-3	-

C. 2. マウスPBKモデル

構築したPBKマウスモデルで、2レベルで経口投与後の経時的な BPA のマウス血清中の非結合態の濃度を予測した。その結果、モデル予測値は測定値の1/3~3倍の範囲内で、若干過小推定気味であったが、ほぼ適切に濃度-時間変化を再現した。さらに、CLintを除く物質に特異的なパラメータである分子量、log Kow、fupおよびTPSAは、検討対象の5物質とBPAで大きな差異はないことから、吸収、分布および腎排泄にも大きな差異は生じないと予想されたため、BPAで予測能が検証されたPBKマウスモデルを5物質のIVIVE換算係数の算出に使用することは可能と判断した。

C. 3. IVIVE

5物質に対して選定されたクリティカルなキーイベントは、タンパク質産生（3物質）、受容体の二量化（1物質）、そして二量体のDNA結合（1物質）であった。

算出されたIVIVE換算係数を使用して対象物質のクリティカルなキーイベントのAC₅₀値から外挿されたOED_{crit}値は、子宮肥大試験でエストロゲン活性が陽性で、LOELが導出されている3物質では、LOELの1/2~2倍の範囲内であり、BMD₅₀に対しても同様に1/2~2倍の範囲内であった。また、クリティカルなキーイベントのACC値から外挿されたOED_{crit}値は、陽性3物質ではともにNOELおよびBMD₂₀の1/4~4倍の範囲内であった。

一方、子宮肥大試験においてエストロゲン活性が陰性であった2物質では、ACC値が陽性の3物質に比べて高く、反応の発現には3物質よりも高い

血漿中タンパク質非結合態の濃度が必要であることに加えて、IVIVE換算係数も3物質と同程度かより高値であるため、より多くの投与量を必要となる。このため、陰性2物質のOED_{crit}は子宮肥大試験における最大投与量（1000 mg/kg/day）よりも大きい値が算出された。

物質名	クリティカルキーイベント	OED _{crit} mg/kg/day
2,2',4,4'-Tetrahydroxybenzophenone	タンパク質産生	510
Daidzein	二量体のDNA結合	680
4-Cumylphenol	受容体の二量化	160
Heptyl 4-hydroxybenzoate	タンパク質産生	1700
2-Ethylhexyl 4-hydroxybenzoate	タンパク質産生	9900

D. 考察

子宮肥大試験でエストロゲン作用が陽性の3物質について、クリティカルキーイベントの*in vitro* AC₅₀およびACC値から算出したOED_{crit}はそれぞれ、LOELとBMD₅₀およびNOELとBMD₂₀と同レベルであり、陰性の2物質については、OED_{crit}は子宮肥大試験の最高投与量よりも高い値が予測された。これらの結果から、IVIVEアプローチの適用は、ほぼ妥当と評価され、子宮肥大試験やそれ以外の短期の*in vivo*試験の代替法としての可能性を示唆していると考えられた。

現在、IVIVEアプローチは主にスクリーニングと優先順位付けへの適用が想定されており、活発に検討が行われている。しかし、現行の定量的リスク評価でPoint of Departure (PoD)として使用される*in vivo*試験のNOAELやBMDL等の代替となり得るOEDを得るためには、*in vivo*の毒性発現に係る作用機序の各キーイベントの中から如何にしてクリティカルなキーイベントを選定し、PoDとなり得るOEDを導出するかについてのさらなる検討が必要と考えられる。

本検討においては、PBKマウスモデルが重要な役割を果たしたが、マウス特異的な情報が限られていたため、一部のパラメータにはラットの値を代用した。BPAでの検証の結果は、ほぼ妥当であり、代用が5物質のIVIVEの検討には大きな影響を及ぼさなかったと考えられるが、今後のIVIVEの検討においては、多様なトキシコキネティック特性を持つ化学物質を対象とする必要があると予

想される。このため、マウスモデルの検証に利用できる薬物動態試験データの入手可能性は限られているが、モデルの予測の不確実性を減らし、信頼性を向上させるため多様な特性の物質でPBKモデルの検証を続ける努力が必要である。

E. 結論

内分泌かく乱化学物質の優先リスト内の5物質を対象とした本検討では、PBKモデルを利用することにより *in vitro* アッセイの結果から子宮肥大試験の結果をほぼ妥当に予測できたと考えられるが、今後もさらに多様な特性の物質に適用を拡大してIVIVEアプローチの妥当性を子宮肥大試験や他の短期間の *in vivo* 試験で評価することが重要である。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Hirose N, Hasegawa, S, Umamo T, Murata Y, Iso T, Inoue K, Yamada T, Masumura K, Matsumoto M: Summary information of human health hazard assessment of existing chemical substances (X). Bull. Natl Inst. Health Sci. 2024 142: 63-70
2. Iso T, Suzuki K, Murata Y, Hirose N, Umamo T, Horibata K, Sugiyama KI, Hirose A, Masumura K, Matsumoto M: Lack of *in vivo* mutagenicity of carbendazim in the liver and glandular stomach of MutaMice. Genes Environ. 2024;46:7. doi: 10.1186/s41021-024-00299-4.

2. 学会発表

1. 村田康允、赤木純一、土井悠子、磯貴子、馬野高昭、小川久美子、増村健一、松本真理子：ジルコニウムブトキシドのラットを用いた90日間反復経口投与毒性試験。福岡、第51回日本毒性学会学術年会、2024年7月3-5日
2. 磯貴子、村田康允、広瀬望、馬野高昭、津田雅貴、堀端克良、杉山圭一、増村健一、松本真理子：酢酸コバルト(II)四水和物の *in vivo* 変

異原性評価。福岡、第51回日本毒性学会学術年会、2024年7月3-5日

3. Matsumoto M, Yoshida K, Umamo T, Murata Y, Hirose N, Iso T, Yamada T, Masumura K: *In vitro* to *in vivo* extrapolation (IVIVE) for uterotrophic activity of 4- α -cumylphenol. 福岡、第51回日本毒性学会学術年会、2024年7月3-5日
4. 松本真理子、磯貴子、馬野高昭、村田康允、広瀬望、増村健一、堀端克良、杉山圭一：トルエンジイソシアネート経口投与によるMutaMouse 肝臓における変異原性。岡山、第53回日本環境変異ゲノム学会、2024年12月7-8日
5. Tanabe A., Fukushima A., Akahori Y., Umamo T., Hirose N., Matsumoto M, Hirose A. Comparison of BMDL calculation performance with Bayesian BMD calculation tools using continuous datasets of animal toxicity studies. SRA2024 (オースティン、2024年12月8-12日)
6. M. Matsumoto, M. Wakayama, N. Hirose, T. Umamo, T. Iso, and Y. Murata : Comparison of Bayesian model averaging BMDLs calculated with ToxicR and BMABMDR for the incidence of animal carcinogenicity SOT2025 (オランダ、2025年3月17日)
7. Fukushima A., Tanabe A., Matsumoto M, Umamo T., Hayashi T., Hirose A. : Impact analysis of prior information on BMDL calculation for continuous data using Bayesian model software tools. SOT2025 (オランダ、2025年3月17日)

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

分担研究課題名： CYP代謝に関する *in silico*アプローチの開発

研究分担者 安部 賀央里
名古屋市立大学 薬学研究科 講師

研究要旨

化学物質の毒性評価において、動物実験に依存しない新たな評価手法である New Approach Methodology (NAM) の開発、実用化が求められている。特に、既存の毒性情報や機械学習等を活用した *in silico* アプローチへの期待は大きく、化学構造情報を用いた定量的構造活性相関 (QSAR) やリードアクロス、グループ化等の評価方法が開発されている。現状では、これらの *in silico* 予測手法を人の健康影響評価の科学的な根拠として活用するための基盤整備が進められている。一方で、より複雑な毒性メカニズムを有する全身毒性に関しては、動態や代謝の観点からヒトと動物の種差を考慮した統合的な評価が必要とされるが、十分な予測は困難な状況にある。そこで、本分担研究ではヒトへの安全性外挿に関して、薬物代謝酵素であるシトクロム P450 (CYP) の種差の違いに関する情報を効率的に提供できる *in silico* アプローチ開発を目的とした。ラットとヒトの CYP 分子種情報や反復投与毒性情報等を収集、整理し、CYP 阻害活性や代謝物を予測するモデルを組み合わせた *in silico* アプローチから、ラットとヒトの種差に関する情報提供が可能な場면을検討する。

A. 研究目的

化学物質の管理において、化審法等の生活関連物質の安全性評価は重要である。近年、ヒトへの健康影響評価において、3Rs の観点や、動物とヒトでの種差を考慮する中で毒性予測の精緻化を目指した取り組みが注目されており、化学物質の毒性評価において、動物実験に依存しない新たな評価手法である New Approach Methodology (NAM) の開発、実用化が求められている。特に、既存の毒性情報や機械学習等を活用した *in silico* アプローチへの期待は大きく、化学構造情報を用いた定量的構造活性相関 (QSAR) やリードアクロス、グループ化等の評価方法が開発されている。現状では、これらの *in silico* 予測手法を人の健康影響評価の科学的な根拠として活用するための基盤整備が進められている。一方で、より複雑な毒性メカニズムを有する全身毒性に関しては、動態や代謝の観点からヒト

と動物の種差を考慮した統合的な評価が必要とされるが、未だ十分な予測は困難な状況にある。そこで、本分担研究ではヒトへの安全性外挿に関して、薬物代謝酵素であるシトクロム P450 (CYP) の種差の違いに関する情報を効率的に提供できる *in silico* アプローチ開発を目的とした。ラットとヒトの CYP 分子種情報や反復投与毒性情報等を収集、整理し、CYP 阻害活性や代謝物を予測するモデルを組み合わせた *in silico* アプローチから、ラットとヒトの種差に関する情報提供が可能な場면을検討する。

B. 研究方法

ラットとヒトの複数の CYP 分子種の阻害活性に関する *in vitro* 実験結果を基に作成された *in silico* 予測モデルや代謝テンプレートを整理した。これまでに開発したラット7種 (CYP1A1, 1A2, 2B1, 2C6, 2D1, 2E1, 3A2)、ヒト11種 (CYP1A1, 1A2, 1B1,

2A6, 2B6, 2C8, 2C9, 2C19, 2D6, 2E1, 3A4) のCYP分子種の阻害活性を判別する*in silico*予測モデル

(Ambe et al., *Chem. Res. Toxicol.* 37(11) 1843-1850 (2024)) は、約300物質の*in vitro*実験結果を学習データとしている。また、化学物質のSMILESから分子記述子をmordredにより算出することで説明変数として使用し、各分子種の阻害活性の有無を判別することが可能である。このモデルをより簡便に使用するために、化学物質のSMILESを入手することで、半自動的にラット7種、ヒト11種のCYP分子種の阻害活性の有無 (1,0) と予測確率 (0-1) が得られるシステムを構築した (<http://www.phar.nagoya-cu.ac.jp/hp/dse/en/outline.html>)。

また、反復投与毒性に関するラットとヒトの公開情報を収集・整理した。ラットではAI-SHIPS ToxDBを活用し肝毒性に着目した。AI-SHIPS ToxDBの分類情報を基に、無影響量 (NOEL: Non Observed Effect Level) を使用して①NOEL ≤ 30 mg/kg/day、②30 mg/kg/day < NOEL ≤ 300 mg/kg/day、③ 300 mg/kg/day < NOELの3段階に化学物質を分類した。

(AI-SHIPS ToxDB: <https://riss.aist.go.jp/results-and-dissemin/2798/>)

ヒトの肝毒性についてはDILIrakを活用した。Most-DILI-concern、Less-DILI-concern、No-DILI-concern、Ambiguous-DILI-concernの4つの分類が使用されており、本研究でも化学物質の肝毒性の情報を4段階で分類した。(DILIrak: *Drug Discov Today*. 21(4) 648-653 (2016))

代謝テンプレートに関しては、山添らがこれまでに発表している、基質の3D構造とテンプレートシステムによる高精度のCYP代謝予測モデルの公表論文を中心に情報を整理した。代謝テンプレートは特定のコンピュータ環境 (MacOS 10.48等) で利用可能であり、化学物質の構造をMac版Chem3Dで作成した後、ChemDraw上で基質テンプレートへの「当てはめ」(化学物質の構造がテンプレート型の一部

の図形と一致した状態)を確認することが可能である。テンプレート当てはめの方法や規則については、プロトコールに従って実施することができる。

(倫理面の配慮)

本研究では動物を用いた実験は実施しない。

C. 研究結果

これまでに開発したCYP分子種の*in silico*予測モデルをシステム化し、本研究の予測対象物質に活用した。本システムは化学物質のSMILESが入手できれば、無料公開されている分子記述子計算ソフトウェア mordredにより記述子を計算することでラット7種、ヒト11種のCYP分子種の阻害活性の有無と予測確率を算出できる。また、肝毒性に関するラット (AI-SHIPS ToxDB) とヒト (DILIrak) の公開情報を収集・整理した。2つのデータベースからは、共通して87物質についてラットとヒトの両方で肝毒性の情報を有することが確認された。ヒトの肝毒性情報としては、Most-DILI-concernが44物質、Less-DILI-concernが36物質、No-DILI-concernが7物質であった。本研究ではAmbiguous-DILI-concernは情報の正確性が不足しているため使用しなかった。一方で、ラットの肝毒性情報としては、①NOEL ≤ 30 mg/kg/dayが23物質、②30 mg/kg/day < NOEL ≤ 300 mg/kg/dayが35物質、③300 mg/kg/day < NOELが29物質であった。本研究では、ヒトの肝毒性ありをMost-DILI-concernの44物質、肝毒性なしをLess-DILI-concernの36物質とNo-DILI-concernの7物質の計43物質とした。ラットの肝毒性は①NOEL ≤ 30 mg/kg/dayの23物質、肝毒性なしを③300 mg/kg/day < NOELが29物質とした。これらの定義に当てはまらない物質はその他 (others) とした。これら89物質に対してSMILESから分子記述子をmordredにより算出し、CYP阻害活性予測システムにてラット7種、

ヒト11種のCYP分子種の阻害活性の有無(1,0)と予測確率を出力した。

87物質についてCYP分子種の阻害活性の予測確率(0-1)を用いて、k-meansクラスタリングを実施した。最適なクラスタ数はElbow methodにて検討したところ、k=4またはk=5が本データにおける最適クラスタ数であったため、2つのクラスタを作成した。各化学物質について、ラット7種、ヒト11種の計18種のCYP阻害活性の予測確率(0-1)情報のみを使用して教師無し学習であるクラスタリングを実施した。クラスタにプロットされる各化学物質を、肝毒性に関するラット(AI-SHIPS ToxDB)とヒト(DILIrak)の公開情報から設定した肝毒性あり、肝毒性なし、その他(others)について色分けするとそれぞれのクラスタに種差がある可能性が高い物質、または種差を生じる可能性が低い物質がどのように分布しているかが確認できた。特に、クラスタ数を4つに設定した場合、クラスタ3ではラットとヒトの肝毒性に種差がある傾向がある物質が含まれないことが確認された(図1)。つまり、クラスタ3に分類されない物質は、種差を有する可能性が高いと推測することが可能である。以上の結果から、ラット7種、ヒト11種の計18種のCYP阻害活性の情報と肝毒性の関連が*in silico*手法から確認できる可能性が示唆された。

また、代謝テンプレートについては山添らの文献にて、CYP3A4、CYP1A1、CYP1A2、CYP2C18に関するテンプレートが公表されており、CYP3A4については89物質の代謝情報が確認された。

(Yamazoe et al., Food Safety, 9, 10-21, 2021、Yamazoe et al., Food Safety, 8, 34-51, 2021、Yamazoe et al., Drug Metab Pharmacokinet., 35, 253-265, 2020、Yamazoe et al., Drug Metab Pharmacokinet., 34, 113-125, 2019、Goto et al., Drug Metab Pharmacokinet., 34, 351-364, 2019)

今後は、肝毒性に関するラット(AI-SHIPS ToxDB)

とヒト(DILIrak)の公開情報が得られる化学物質について、代謝テンプレートを活用した代謝物情報の取得を進める。

D. 考察

CYP分子種の阻害活性の予測結果を用いたクラスタリングの結果から、ラットとヒトの肝毒性に種差がある傾向が見られるクラスタが確認された。この結果から、CYPを介した化学物質の代謝の違いは、肝毒性の種差に関する情報を提供できる可能性が示唆された。また、化学物質のSMILESが入手できれば、ラット7種、ヒト11種のCYP分子種の阻害活性の有無が予測可能なシステムの構築は、代謝の種差情報を*in silico*にて簡便に得ることができ、動物試験の毒性情報からヒトへの外挿を行う際に有用な支援手段となると考えられる。今後は、代謝テンプレートを活用した代謝物情報を追加することで、全身毒性評価における*in silico*アプローチの有用性や利用場面における検討が期待できる。

E. 結論

これまでに開発したラットとヒトの複数のCYP分子種の阻害活性を化学構造情報のみから判別する*in silico*予測モデルをシステム化し、本研究の予測対象物質に活用可能とした。また、CYP分子種の阻害活性情報からラットとヒトの肝毒性に関する種差情報を*in silico*にて提供できる可能性を見出した。以上の結果をふまえて、CYP阻害活性や代謝物を予測するモデルを組み合わせた*in silico*アプローチから、ラットとヒトの種差に関する情報提供が可能な場面を検討する。

F. 健康危険情報

該当なし。

G. 研究発表

1. 論文発表

(発表誌名・頁・発行年等も記入)

1. Ambe K., Aoki Y, Murashima M, Wachino C, Deki Y, Ieda M, Kondo M, Hibi Y, Kimura K, Hamano T, Tohkin M. Prediction of cisplatin-induced acute kidney injury using an interpretable machine learning model and electronic medical record information. *Clinical and Translational Science*. 18(1) e70115 (2025).
2. Ambe K., Nakamori M., Tohno R., Suzuki K., Sasaki T., Tohkin M., Yoshinari K. Machine learning-based in silico prediction of the inhibitory activity of chemical substances against rat and human cytochrome P450s. *Chem. Res. Toxicol.* 37(11) 1843-1850 (2024).
3. Ashikaga T., Hatano K., Iwasa H., Kinoshita K., Nakamura N., Ambe K., Tohkin M. Next Generation Risk Assessment Case Study: A Skin Sensitization Quantitative Risk Assessment for Bandrowski's Base Existing in Hair Color Formulations. *Journal of Japanese Cosmetic Science Society*. 48(2), 73-77 (2024).
4. Watanabe T., Ambe K., Tohkin M. Streamlining Considerations for Safety Measures: A Predictive Model for Addition of Clinically Significant Adverse Reactions to Japanese Drug Package Inserts. *Biol Pharm Bull.* 47(3), 611-619 (2024).
5. Watanabe T., Ambe K., Tohkin M. Predicting the Addition of Information Regarding Clinically Significant Adverse Drug Reactions to Japanese Drug Package Inserts Using a Machine-Learning Model. *Ther Innov Regul Sci.* 58(2), 357-367 (2024).

2. 学会発表

1. Kaori Ambe Prediction of skin sensitization using machine learning JSAAE & ASCCT-ESTIV Joint Webinar (2024.12)
2. 安部賀央里 皮膚感作性評価における機械学習モデルの活用 スポンサーシップシンポジウム 革新的創薬支援ツールとしての New Approach Methodologies (NAMs) 最前線 CBI 学会 2024 年大会 (2024.10)
3. 安部賀央里 機械学習を活用したレギュラトリーサイエンス研究 講演 データ解析を取り入れたレギュラトリーサイエンス研究の紹介 第10 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 (2024.9)
4. 安部賀央里 機械学習を用いた副作用予測に関

する研究 シンポジウム 100 歳を超える健康設計への挑戦 第 25 回応用薬理シンポジウム (2024.9)

5. 安部賀央里 New Approach Methodologies (NAMs) を活用した皮膚感作性強度予測に向けた機械学習モデルの開発 フォーラム II New Approach Methodologies (NAMs) による毒性の評価 フォーラム2024衛生薬学・環境トキシコロジー (2024.9)
6. Linfeng LIU, Kaori AMBE, Mayu ONISHI, Yuka YOSHII, Toshiaki MAKINO, Masahiro TOHKIN Comparison of Multiple Disease-Modifying Antirheumatic Drugs Combination Therapies with Methotrexate in Rheumatoid Arthritis: A Systematic Review and Bayesian Network Meta-Analysis of Efficacy and Safety The 9th Nagoya / Gifu / Shenyang / Nanjing Symposium of Pharmaceutical Sciences 2024 Nagoya (2024.9)
7. 安部賀央里 AI/機械学習 in 毒性学 ～化学物質の毒性予測モデル開発～ ワークショップ 2 ミライの毒性学 明日から役立つ最先端技術 第51回日本毒性学会学術年会 (2024.7)
8. 鈴木孝太郎、安部賀央里、有吉純平、神谷由紀子、頭金正博 ギャップマー型アンチセンスによるマウスでの血液中アラニンアミノトランスフェラーゼ上昇を予測するためのin silicoモデルの開発 第51回日本毒性学会学術年会 (2024.7)
9. 徳永朱莉、木下啓、安部賀央里、山田隆志、足利太可雄、頭金正博 機械学習を活用した皮膚感作性強度予測モデルの開発と解釈性向上に向けた検討 第51回日本毒性学会学術年会 (2024.7)
10. 安部賀央里 機械学習を活用した薬剤性腎障害の予測モデルの開発 ワークショップ7 ICT は急性期の腎臓診療に変革をもたらすか? 第67回日本腎臓学会学術総会 (2024.6)
11. 安部賀央里 データベースと機械学習を活用した副作用予測研究シンポジウム5 医療DX時代を先導する「薬学×データサイエンス」の取り組み 第26回医薬品情報学会総会・学術大会 (2024.6)

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

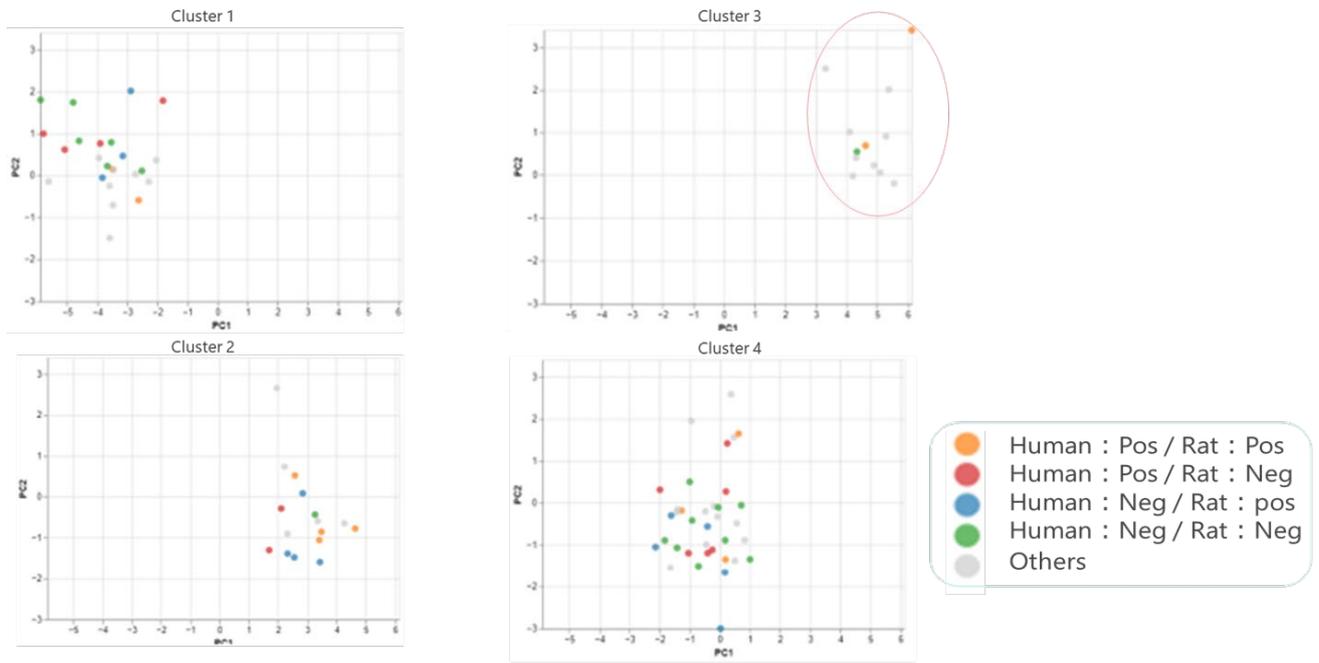


図1 k-means クラスタリング (k=4)によるヒトとラットのCYP阻害活性と肝毒性との関連

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
該当なし							

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
Hirose N, Hasegawa, S, Umamo T, Murata Y, Iso T, Inoue K, Yamada T, Masumura K, Matsumoto M	Summary information of human health hazard assessment of existing chemical substances (X).	<i>Bull. Natl Inst. Health Sci.</i>	142	63-70	2024
Kawashima A, Inoue K, Ushida K, Kai K, Yoshida-Yamashita LS, Masumura K	Derivation of human health hazard assessment values for tetramethylammonium hydroxide (TMAH) under the Japan Chemical Substances Control Law.	<i>Fundamental Toxicol Sci.</i>	11	267-278	2024
Muto S, Furuham A, Yamamoto M, Otagiri Y, Koyama N, Hitaoka S, Nagato Y, Ouchi H, Ogawa M, Shikano K, Yamada K, Ono S, Hoki M, Ishizuka F, Hagio S, Takeshita C, Omori H, Hashimoto K, Chikura S, Honma M, Sugiyama K, Mishima M	Local QSAR based on quantum chemistry calculations for the stability of nitrenium ions to reduce false positive outcomes from standard QSAR systems for the mutagenicity of primary aromatic amines.	<i>Genes and Environment</i>	46	24	2024
Iso T, Suzuki K, Murata Y, Hirose N, Umamo T, Horibata K, Sugiyama KI, Hirose A, Masumura K, Matsumoto M	Lack of in vivo mutagenicity of carbendazim in the liver and glandular stomach of MutaMice.	<i>Genes Environ.</i>	46	7	2024

別添 5

Ambe K., Nakamori M., Tohno R., Suzuki K., Sasaki T., Tohkin M., Yoshinari K.	Machine learning-based in silico prediction of the inhibitory activity of chemical substances against rat and human cytochrome P450s.	<i>Chemical Research in Toxicology</i>	37(11)	1843-1850	2024
Furuhashi A, Sugiyama K, Honma M	Ames mutagenicity of 15 aryl, benzyl, and aliphatic ring <i>N</i> -nitrosamines	<i>Regulatory Toxicology and Pharmacology</i>	156	105763	2025
Yamamoto S, Yoshida K, Matsumoto M, Yamada T.	Construction and evaluation of an open-source database for inhalation-based physiologically based kinetic modeling of selected categories for industrial chemicals.	<i>J. Toxicol. Sci.</i>	50	57-68	2025

厚生労働大臣 殿

機関名 国立医薬品食品衛生研究所

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 本間 正充

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 化学物質リスク研究事業
2. 研究課題名 化学物質管理のための *in silico* 毒性予測の利用推進と統合的リスク評価の基盤構築に関する研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 安全性予測評価部・部長
(氏名・フリガナ) 増村健一・マスムラケンイチ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称：)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

厚生労働大臣 殿

機関名 国立医薬品食品衛生研究所

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 本間 正充

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 化学物質リスク研究事業
2. 研究課題名 化学物質管理のための *in silico* 毒性予測の利用推進と統合的リスク評価の基盤構築に関する研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) ゲノム安全科学部・主任研究官
(氏名・フリガナ) 古濱彩子・フルハマアヤコ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣
—(国立医薬品食品衛生研究所長)— 殿
—(国立保健医療科学院長)—

機関名 国立大学法人東京大学

所属研究機関長 職 名 学長

氏 名 藤井 輝夫

次の職員の令和6年度厚生労働行政推進調査事業費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 化学物質リスク研究事業

2. 研究課題名 化学物質管理のための *in silico* 毒性予測の利用推進と統合的リスク評価の基盤構築に関する研究

3. 研究者名 (所属部署・職名) 大学院薬学系研究科・助教

(氏名・フリガナ) 水野 忠快・ミズノ タダハヤ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣 殿

機関名 国立医薬品食品衛生研究所

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 本間 正充

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 化学物質リスク研究事業
2. 研究課題名 化学物質管理のための *in silico* 毒性予測の利用推進と統合的リスク評価の基盤構築に関する研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 安全性予測評価部・第三室長
(氏名・フリガナ) 山田隆志・ヤマダタカシ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称：)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由：)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関：)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由：)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容：)

厚生労働大臣 殿

機関名 国立医薬品食品衛生研究所

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 本間 正充

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 化学物質リスク研究事業
2. 研究課題名 化学物質管理のための *in silico* 毒性予測の利用推進と統合的リスク評価の基盤構築に関する研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 安全性予測評価部・第二室長
(氏名・フリガナ) 松本真理子・マツモトマリコ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称：)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由：)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関：)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由：)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容：)

令和7年3月31日

厚生労働大臣 殿

機関名 公立大学法人 名古屋市立大学

所属研究機関長 職 名 理事長

氏 名 郡 健二郎

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 化学物質リスク研究事業

2. 研究課題名 化学物質管理のための *in silico* 毒性予測の利用推進と統合的リスク評価の基盤構築に関する研究

3. 研究者名 (所属部署・職名) 薬学研究科 准教授

(氏名・フリガナ) 安部 賀央里 アンベ カオリ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	<input type="checkbox"/>	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		<input type="checkbox"/>

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 <input checked="" type="checkbox"/> 未受講 <input type="checkbox"/>
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 <input checked="" type="checkbox"/> 無 <input type="checkbox"/> (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 <input type="checkbox"/> 無 <input checked="" type="checkbox"/> (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。