

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

Ames/QSAR の化審法新規審査への実装に関する研究
(25KD2002)

令和 7 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 杉山 圭一

令和 8 年 (2026) 5 月

目次

I. 総括研究報告

p. 1-8

II. 分担研究報告

p. 9-44

III. 研究成果に刊行に関する一覧表

p. 45-46

IV. 倫理審査及び利益相反の管理の状況に関する報告

令和 7 年度 厚生労働行政推進調査事業費補助金（化学物質リスク研究事業）
総括研究報告書

研究課題名：Ames/QSAR の化審法新規審査への実装に関する研究

研究代表者： 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
ゲノム安全科学部

研究要旨

本研究では、化審法新規審査における遺伝毒性評価に使用されている Ames 試験と in vitro 染色体異常試験に関して、Ames 試験については in silico 手法となる Ames/QSAR への移行性、in vitro 染色体異常試験についてはその必要性について検討することを目的としている。

Ames/QSAR ツールの予測性の評価、化審法への実装に向けた改良と戦略に関する研究に関しては、Ames/ QSAR チャレンジプロジェクトで利用した 12,140 化合物からなる Ames 試験データベースを改良し、TA100、TA98 の結果のみからなる新規データベースを構築し、その Ames 変異原性を CASE Ultra（統計ベース）と、DEREK Nexus（知識ベース）の 2 つの QSAR モデルで予測した。2 つの QSAR をバッテリーとした場合、新規データベースでその陽性予測性が顕著に向上した。また、Ames 変異原性に関与する新たなアラート構造も示唆された。Ames/QSAR の予測精度の向上には QSAR モデルの改良だけでなく、Ames 試験法、評価方法の見直しも重要であり、試験結果の再評価と QSAR モデルの改良のクロストークが、科学的かつ現実的な変異原性評価とに繋がるものと考えている。

化審法において Ames 試験を QSAR に代替するための問題点の整理と、その克服法に関する研究については、本年度は化審法の審査シート（2001 年 9 月～2024 年 3 月）から Ames 試験結果を有する 3,225 物質を抽出し、構造情報を整備したうえで、知識ベース型の Derek Nexus および統計ベース型の CASE Ultra を用いて QSAR 評価を行った。その結果、知識ベースと統計ベースの QSAR を併用することで単独使用に比べて感度が向上することが確認された。

化審法における染色体異常試験の整理とその妥当性に関する研究については、本年度は、国内外における染色体異常試験の行政利用の状況を調査し、染色体異常試験とげっ歯類がん原性試験の両方の結果がある医薬品の情報を収集した。染色体異常試験は日米欧の様々な規制で利用されており、リスク評価項目として重視されている現実が確認できた。一方で、げっ歯類発がん性の予測については感度が低く擬陽性も多い様子が見えたが、哺乳類細胞における評価はやはり重要と思われるため、細菌と哺乳類の違いを埋めるには何をすべきか、慎重に考えていく必要がある。

研究分担者

本間正充：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・客員研究員、国立医薬品食品衛生研究所 名誉所長

三島雅之：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・研究助手

研究協力者

正田卓司：国立医薬品食品衛生研究所 有機化学部・室長

山田隆史：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 毒性部・部長

松村奨士：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

A. 研究目的

Chemical Abstracts Service によると、現在登録されている化学物質は約 3 億種類に達し、毎日約 6 万種類の新規化学物質が登場している。これらの化学物質が環境や人に与える影響を従来の試験法で評価することは現実的に不可能であり、IT 技術や *in silico* 評価手法の活用が不可欠であることは明白である。我が国では、「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律」（以下、「化審法」という。）の新規化学物質の判定に際して、10 年以上前から *in silico* 評価手法の 1 つである QSAR の導入が検討されており、予測結果が参考データとして提供されてきた。しかし、現時点では実試験の完全な代替には至っていない。一方、2014 年に制定された ICH-M7 では、医薬品不純物の変異原性評価に Ames 試験の代替法として QSAR の利用が認められた。これを契機

に Ames/QSAR ツールの開発や改良が急速に進み、その予測性は遙かに向上した。また、ICH-M7 では Ames/QSAR の利用が定着している。

本研究では化審法においても、QSAR が Ames 試験の代替法として利用可能かを検証する。そのために、現在、化審法で Ames 試験結果の予測に用いられている 2 つの主要な QSAR ツール (DEREK NEXUS、CASE ULTRA) の予測性能を化審法で審議された化学物質のデータベース及び外部データベースにより評価し、利用可能であることを検証する。

一方で、QSAR 結果と Ames 試験結果の不一致を最小化するため、Ames 試験結果の見直しを行い、新たな評価法の提案も行う。標準的な Ames 試験は TA100、TA1535、WP2 *uvrA*、TA98、TA1537 の 5 菌株で実施されているが、TA1535、TA1537、および WP2 *uvrA* 株の結果には生物学的妥当性を欠く陽性反応が見られるとの報告から、TA100、TA98 株のみ評価された新規データベースを構築し、2 つの QSAR モデル (DEREK NEXUS、CASE ULTRA) でその Ames 変異原性を予測し、予測精度の向上を検証する。このように QSAR の予測精度の向上と、Ames 試験結果判定法の見直しの双方向のアプローチが、Ames 試験結果の信頼性と QSAR の予測性の向上に繋がるものと考ええる。

化審法において人健康影響の観点で有害性を判断するための実試験のうち、変異原性試験としては、Ames 試験のほかに染色体異常試験も要求される。しかしながら、染色体異常試験は擬陽性率が高いことや、染色体異常誘発のメカニズムは依然とし

て不明であることも多く、実用化に耐えうる QSAR も開発されていない。医薬品の分野においては ICH-S2 では染色体異常試験を必要としないオプションも提案されているなど、その重要性は低下している。本研究では、化審法の新規化学物質の判定時で染色体異常試験が行われた化学物質をデータベース化し、その陽性結果の生物学的妥当性を Ames 試験や他の毒性試験の結果から再評価し、最終的には、染色体異常試験を再評価し、化審法の新規化学物質届に対して染色体異常試験結果を活用せず評価する場合の影響について検証する。

B. 研究方法

Ames/QSAR ツールの予測性の評価、化審法への実装に向けた改良と戦略に関する研究：2017 年に開催された International Workshop on Genotoxicity Testing (IWGT) の Ames 試験グループの報告では TA1535、TA1537、および WP2 uvrA 株の結果には生物学的妥当性を欠く陽性反応が見られ、TA100、TA98 株のみでほとんどの変異原物質を検出するのに十分であるとされた。この報告を受け、Ames/ QSAR チャレンジプロジェクトで利用した 12,140 化合物からなる Ames 試験データベースを改良し、TA100、TA98 の結果のみからなる新規データベースを構築した。データベースには強い陽性(A 物質)、それ以外の陽性(B 物質)が含まれる。今年度は A、B 物質の Ames 変異原性を CASE Ultra (統計ベース) と、DEREK Nexus(知識ベース)の 2 つの QSAR モデルで計算し、その陽性予測性能を評価する。また、2 つの QSAR で陽性予測できない A 物質 (偽陰性) についてその特徴を

明らかにする。

化審法において Ames 試験を QSAR に代替するための問題点の整理と、その克服法に関する研究：化審法での Ames 試験データベースを整備し、陰性、陽性、強い陽性物質の出現頻度を調査した。Ames 試験と QSAR 予測結果と比較した。

化審法における染色体異常試験の有用性に関する研究：本研究では、化審法の新規化学物質の判定時で染色体異常試験が行われた化学物質をデータベース化したが、発がん性に関する情報が無いため、染色体異常試験の発がん性予測に関する評価ができなかった。

染色体異常試験法については、ICH S2(R1)では2011年に、OECDガイドラインも2014年に改定が行われたため、旧来の試験法で実施された公共データベース等の登録データは、現在の試験法の性能評価には適さない。そこで、本年度は、2018年以降に承認申請された新成分医薬品の情報を調査し、染色体異常試験 (またはin vitro小核試験) とげっ歯がん原性試験 (ラット2年間、マウス2年間、rasH2マウス試験のうち1試験以上) の結果がある化合物を選択し、げっ歯類発癌性の予測性について検討した。

なお、背景データ内の異常増加については、陰性とした。げっ歯類発がん性予測についての検討を目的とするため、がん原性試験で増加した腫瘍のヒトへの外挿性については考慮せず、腫瘍の増加があれば発がん性陽性とした。また、国内外における、染色体異常試験の行政利用の状況について調査した。

(倫理面への配慮)

該当項目なし。

C. 研究結果

Ames/QSAR ツールの予測性の評価、化審法への実装に向けた改良と戦略に関する研究： 第一回 Ames/ QSAR チャレンジプロジェクトで利用した 12,140 化合物からなる Ames 試験データベースを改良し、TA100、TA98 の結果のみからなる新規データベースを構築した。新規データベースは、A 物質 (強い陽性) : 574 (4.8%)、B 物質 (陽性) : 703 (5.9%)、C 物質 (陰性) : 10,655 (89.3%)、合計 11,932 化合物からなる。旧データベース (12,140) と新データベース (10,655) の化合物の Ames 変異原性を CASE Ultra と、DEREK Nexus の 2 つの QSAR モデルで予測した。A 物質の検出力に関しては、両 QSAR モデルとも新データベースでの検出力の差は顕著でなかったが、B 物質に関しては両 QSAR モデルとも約 5% の検出力の向上が認められた。また、2 つの QSAR モデルをバッテリーとして利用することにより、A 物質の 90%、B 物質の 63% を陽性と判定でき、総合陽性検出力 (A+B) は 75% であり、旧データベースでの 71% を顕著に上回るものであった。また、A 物質でありながら両 QSAR モデルで陽性と判定できない物質が 56 化合物あったが、その内 39 物質については試験報告書から強い陽性が確認された。

化審法において Ames 試験を QSAR に代替するための問題点の整理と、その克服法に関する研究： 化審法の審査シート (2001 年 9 月～2024 年 3 月、全 8,598 物質) から Ames 試験結果が付与されている 3,225 物質を抽出し、ポリマーや混合物等を除外し

たうえで構造式から SMILES を作成した。最終的に、解析対象として 1,609 物質を選定した。Ames 試験結果の内訳は、陰性 1,457 物質 (90.6%)、陽性 152 物質 (9.4%) であった。

これらの物質について、代表的な商業 QSAR モデルである Lhasa Limited (UK) の Derek Nexus (ver. 6.2.1, Nexus 2.5.2、以下 Derek) および MultiCASE 社 (USA) の CASE Ultra (GT1_BMUT ver.1.9.0.2/1.8.0.1、以下 CASE Ultra) を用いて QSAR 予測を実施し、Ames 試験結果との比較を行った。その結果、単独使用時には、陰性的中率は Derek で 94.5%、CASE Ultra で 96.4% と高値であった一方、感度はそれぞれ 49.3%、64.2% にとどまった。一方で Derek の知識ベース QSAR と CaseUltra の統計ベース QSAR を併用することにより、陰性的中率は 97.1% を維持したまま、感度が 76.3% へと向上し、単独使用に比べて両指標が同時に改善単独使用に比べて両指標が同時に改善することを確認した。

化審法における染色体異常試験の有用性に関する研究： 調査した化合物のうち Ames 試験陽性物質は 2 つのみであった。これらを除いて集計を行った。すなわち、本調査は Ames 陰性化合物についての、げっ歯類発がん予測性評価である。

合計 81 物質を調査対象とした。げっ歯類がん原性試験陽性物質 (1 試験以上で陽性) は 33 物質、陰性は 48 物質だった。染色体異常試験の感度 24%、特異度 77%、陽性適中率 42%、陰性適中率 40% だった。

陽性尤度比は 1.06、陰性尤度比は 0.98 と、いずれも 1 に近く、データの不均衡を補正した Matthews 相関係数は 0.015 と極めて 0

に近い値となり、実用上の有用性が低い可能性がある。

行政における染色体異常試験利用状況は、日米欧ではほぼ同様である。多くの化学物質規制で、Ames 試験と並んで染色体異常試験が利用されている。

D. 考察

Ames/QSAR ツールの予測性の評価、化審法への実装に向けた改良と戦略に関する研究：実際の Ames 試験は GLP で実施されているにも係わらず、その信頼性に疑問が持たれるものが多く存在する。これは、判定が陽性・陰性の定性的であり、そのボーダーラインにあるもの判定は equivocal、もしくは inconclusive とされることが多く、再現性が悪い。特に、TA1535、TA1537、TA102、および WP2uvrA 株の結果はその傾向が高い。その原因は明らかではないが、陽性判定には経験的に 2 倍法（少なくとも 1 用量で 2 倍を超える復帰突然変異体が観察された場合に陽性とする）採用されているため、陰性対照値が低いこれら菌株では容易に 2 倍を超えやすいことなどが考えられる。菌株の選定や、陽性判定法の変更が科学的妥当性の高い Ames 変異原性試験に繋がるものと考えられる。2017 年に開催された International Workshop on Genotoxicity Testing (IWGT) の Ames 試験グループの報告では TA1535、TA1537、および WP2uvrA 株の結果には生物学的妥当性を欠く陽性反応が見られ、TA100、TA98 株のみでほとんどの変異原物質を検出するのに十分であるとされた。この提案に従い、第一回 Ames/QSAR チャレンジプロジェクトで利用した 12,140 化合物からなる Ames 試験データベースを改

良し、TA100、TA98 の結果のみからなる新規データベースを構築し（11,932 物質）、CASE Ultra と、DEREK Nexus の 2 つの QSAR モデルで予測した。今年度は陽性物質（A；強い陽性、B；それ以外の陽性）に注目し（1,277 物質）、その陽性物質検出力（Sensitivity）を評価した。A 物質の検出力に関しては、両 QSAR モデルとも新データベースでの検出力の差は顕著でなかったが、B 物質に関しては両 QSAR モデルとも約 5% の検出力の向上が認められた。この結果は、A 物質の多くは明らかな変異原性物質であり、QSAR の陽性予測に影響を与えないのに対して、B 物質の陽性反応、特に TA100、TA98 以外の陽性結果は曖昧なものが多く、これらを除くことにより、QSAR の陽性予測が向上することを示している。2 つの QSAR をバッテリーとした場合、新規データベースでその陽性予測性が顕著に向上した（71%→75%）。また、陽性物質全体では 53% が両 QSAR で陽性を示し、CASE Ultra 単独では 12%、DEREK Nexus 単独では 10% が陽性を示した。このことは両 QSAR の陽性検出能力はほぼ同様であり、単独では検出できない部分を互いに補っており、2 つの QSAR のバッテリーがスクリーニングとして非常によく機能していることを示している。全体的な予測能力（Accuracy）は次年度に陰性予測率（Specificity）の解析結果を組み合わせる評価する予定である。

一方、A 物質でありながら 2 つの QSAR モデルで陽性と判定できない物質（偽陰性）が 56 物質あった。これら 56 物質の試験報告書を調査し、その陽性反応の強さ、菌株依存性、用量依存性、再現性などを確認した。

その結果、39 物質は明らかな陽性（A 物質は妥当）と判定された。これら物質の化学構造からアラート構造を抽出し、QSAR モデルに組み込むことが重要である。Ames/QSAR の予測精度の向上には QSAR モデルの改良だけでなく、Ames 試験法、評価方法の見直しも重要であり、試験結果の再評価と QSAR モデルの改良のクロストークが、科学的かつ現実的な変異原性評価とに繋がるものと考ええる。

化審法において Ames 試験を QSAR に代替するための問題点の整理と、その克服法に関する研究：Derek および CASE Ultra の単独 QSAR においても、正確度はそれぞれ 87.3%、89.9%と高く、陰性的中率も 94.5%、96.4%と高い値を示した。このことから、QSAR により陰性と判定された化合物の多くが、実験的にも非変異原性であることが確認され、陰性予測に関して一定の信頼性があると判断される。

さらに、2 系統の QSAR を併用すると、単独使用に比べて陰性的中率および感度が向上した。特に inconclusive (inc) および out of domain (OOD) を陽性側として扱う条件（+inc, OOD）では、感度が 76.3%に達し、陽性化合物を見逃す割合が大幅に減少した。一方で、陽性的中率や特異度はわずかに低下したが、これは陰性化合物の一部を陽性と過大に判定したためと考えられる。これらの結果から、2 系統 QSAR の併用により「陽性を見逃さない」方向へ予測が強化され、より保守的な（安全側）評価が実現されていることが分かる。この評価傾向は、化審法におけるリスク回避的な審査方針と整合しており、2 系統 QSAR の組み合わせが化審法における規制評価に有用であること

が示唆される。

化審法における染色体異常試験の有用性に関する研究：染色体異常試験の感度 24%は非常に低いが、Ames 陰性化合物を調査対象としたものであり、Ames 試験によって多くの遺伝毒性発がん物質が除外されているはずなので、この数値をもって染色体異常試験の有用性を否定する決定的な材料にはならないと考えるが、Ames 試験が遺伝毒性評価のファーストスクリーニングになっている世間一般の実状を踏まえれば、Ames 試験陰性の場合に、さらに染色体異常試験を実施する意味について、議論が必要かもしれない。

一方で、染色体異常試験の偽陽性率 58%は、依然として高い数値である。発がん性陰性物質の半数以上が染色体異常試験で陽性と判定されてしまう状況は改善しなければならない。陽性尤度比は 1.06、陰性尤度比は 0.98 と、いずれも 1 に近く、データの不均衡を補正した Matthews 相関係数は 0.015 と極めて 0 に近い値となり、実用上の有用性が低い可能性がある。

日米欧では、多くの化学物質規制で、Ames 試験と並んで染色体異常試験が利用されている。Ames 試験菌株では、哺乳類と異なり DNA がクロマチン構造を取らず、細胞内の DNA 存在様式が哺乳類と大きく異なる。さらに、細菌の DNA 修復系は哺乳類とは違うこと、哺乳類細胞のみに遺伝毒性を有する化学物質が存在することが知られており、Ames 試験に加えて哺乳類細胞試験を実施することは理にかなっている。哺乳類細胞のデータなしに有害性を判断することにはかなりの抵抗感があろう。細菌と哺乳類の違いを埋めるにはどうすべきか、

慎重に考えていく必要がある。

E. 結論

Ames/QSAR ツールの予測性の評価、化審法への実装に向けた改良と戦略に関する研究：Ames/QSAR モデルの予測性の向上には信頼性の高い Ames 試験データベースの整備が重要である。 TA1535、TA1537、および WP2 uvrA 株の Ames 試験結果には生物学的妥当性を欠く陽性反応が見られることから TA100、TA98 の結果のみからなる新規データベースを構築した (11,932 物質)。新規データベースには、1,277 の陽性物質が含まれる。その陽性物質の Ames 変異原性を CASE Ultra (統計ベース) と、DEREK Nexus (知識ベース) の 2 つの QSAR モデルで予測した。2 つの QSAR をバッテリーとした場合、新規データベースでその陽性予測性は顕著に向上した。また、Ames 変異原性に関与する新たなアラート構造も示唆された。Ames/QSAR の予測精度の向上には QSAR モデルの改良だけでなく、Ames 試験法、評価方法の見直しも重要である。

化審法において Ames 試験を QSAR に代替するための問題点の整理と、その克服法に関する研究：本研究では、化審法審査シートの大規模データを基盤として 1,609 物質の Ames 試験結果と構造情報を整理し、代表的な QSAR ツール (Derek、CASE Ultra) による予測性能を体系的に評価した。Derek および CASE Ultra の単独 QSAR でも高い陰性的中率と正確度が得られ、陰性化合物の予測には一定の信頼性があることが確認された。さらに、2 系統 QSAR を併用することで感度が大きく向上し、特に

inconclusive および OOD を含めた条件では陽性化合物の見逃しを大幅に低減できた。

これらの結果から、知識ベースと統計ベースの QSAR を併用するアプローチは、化審法における「陽性を見逃さない」安全側評価と整合し、変異原性評価において有用な代替手法となり得ることが示された。今後は、偽陰性化合物の特徴解析や専門家レビュー指針への展開を通じて、QSAR を活用したリスク評価の高度化が期待される。

化審法における染色体異常試験の有用性に関する研究：発がん性ハザード調査において、染色体異常試験には Ames 試験を補完する役割が期待されてきたが、今回の調査では、染色体異常試験は Ames 試験を補完することができないとの結果だった。しかしながら、細菌と哺乳類の違いは大きく、有害性評価における哺乳類細胞の利用は重要と考えられる。染色体異常試験の偽陽性率が高い理由の解明や、細菌と哺乳類の違いを埋められる適切な代替法を提案していくことが、今後の課題である。

F. 健康危険情報

該当項目なし。

G. 研究発表

G.1. 論文発表

- Martus, H. J., Beevers, C., Dertinger, S., Froetschl, R., Godschalk, R., Gollapudi, B., Hashimoto, K., Kirkland, D., Libertini, S., McGovern, T., Sugiyama, K., White, P. and Zeller, A: Summary of major conclusions from the 8th International Workshop on Genotoxicity Testing (IWGT), Ottawa, Canada, *Environ. Mol. Mutagen.* 2025 Dec;66 Suppl 2:3-16..

別添 3

- ・ Masamitsu Honma, Guidelines for the Assessment and Control of Mutagenic Impurities in Pharmaceuticals. Genes and Environment (2025) 47:26.
- ・ Kei-ichi Sugiyama, Ayako Furuhashi, Katsuyoshi Horibata, Masataka Tsuda, Kazuki Izawa, Genichiro Tsuji, Yosuke Demizu, Kohei Matsushita, Takeshi Toyoda, Yoko Hirabayashi, Yoshiro Saito, Masamitsu Honma. Assessment of mutagenic potential of puberulic acid contaminated in red yeast rice (beni-koji) health food supplements. Mutagenesis, (2026) 41, 110-118.

G.2. 学会発表

該当項目なし。

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当項目なし。

2. 実用新案登録

該当項目なし。

3. その他

該当項目なし

令和7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）
Ames/QSAR の化審法新規審査への実装に関する研究

**分担報告書名: Ames/QSAR ツールの予測性の評価、化審法への実装に向けた改良と戦略に
関する研究**

研究分担者 本間 正充 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

研究要旨

Ames/QSARモデルの予測性の向上には信頼性の高いAmes試験データベースの整備が重要である。標準的なAmes試験はTA100、TA1535、WP2 uvrA、TA98、TA1537の5菌株で実施されているが、2017年に開催されたInternational Workshop on Genotoxicity Testing (IWGT)のAmes試験グループの報告ではTA1535、TA1537、およびWP2 uvrA株の結果には生物学的妥当性を欠く陽性反応が見られ、TA100、TA98株のみでほとんどの変異原物質を検出するのに十分であるとされた。これを受け、第一回Ames/QSARチャレンジプロジェクトで利用した12,140化合物からなるAmes試験データベースを改良し、TA100、TA98の結果のみからなる新規データベースを構築した。新規データベースは、A物質（強い陽性）：574（4.8%）、B物質（陽性）：703（5.9%）、C物質（陰性）：10,655（89.3%）、合計11,932化合物からなる。旧データベース（12,140）と新データベース（10,655）の化合物のAmes変異原性をCASE Ultra（統計ベース）と、DEREK Nexus（知識ベース）の2つのQSARモデルで予測した。A物質の検出力に関しては、両QSARモデルとも新データベースでの検出力の差は顕著でなかったが、B物質に関しては両QSARモデルとも約5%の検出力の向上が認められた。また、2つのQSARモデルをバッテリーとして利用することにより、A物質の90%、B物質の63%を陽性と判定でき、総合陽性検出力（A+B）は75%であり、旧データベースでの71%を顕著に上回るものであった。また、A物質でありながら両QSARモデルで陽性と判定できない物質が56化合物あったが、その内39物質については試験報告書から強い陽性が確認された。これら構造アラートのQSARモデルへの組み込みが予測精度の向上に繋がる。Ames/QSARの予測精度の向上にはQSARモデルの改良だけでなく、Ames試験法、評価方法の見直しも重要であり、試験結果の再評価とQSARモデルの改良の双方向からのアプローチが、科学的かつ現実的な変異原性評価とに繋がるものとする。

A. 研究目的

Ames 試験は 1970 年代にブルース・エイムス博士らにより開発された細菌を用いた復帰突然変異試験であり、医薬品候補化合物、農薬、食品添加物をはじめ、あらゆる化学物質の変異原性の評価に用いられる最も重要な毒性試験の一つである。定量的構造活性相関 (QSAR) による Ames 試験結果の予測に関する研究も古くから取り組まれており、多くの毒性予測の QSAR 研究の中で Ames 変異原性に関するものが最も多い。この理由は、変異原性物質は基本的に DNA と結合する求電子性構造を持つため、その化学構造から理論的 (求電子理論) に変異原性を予測可能であること、Ames 試験結果のデータは他の毒性試験に比べて圧倒的多く、また Ames 試験結果は定性的な 2 元性 (陽性、陰性) であり、データベースを基にした予測モデルが作りやすいこと、などが挙げられる。このためこれまで数多くの Ames/QSAR ツールが開発されてきた。

2014 年に制定された ICH-M7 では、医薬品不純物の変異原性評価に Ames 試験の代替法として QSAR の利用が認められた。これは世界で初めて化学物質の毒性評価に IT 技術が取り入れられた画期的な国際ガイドラインであり、これを契機に Ames/QSAR ツールの開発や改良が急速に進展した。また、2014 年から我々が実施した Ames/QSAR 国際チャレンジプロジェクトは Ames/QSAR の予測率の向上と普及に大きく貢献した¹⁾。これにより ICH-M7 では Ames/QSAR の利用が定着し、Ames/QSAR ツールの開発は医薬品業界ではビジネスとして成功している²⁾。

一方、化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律 (化審法) の新規化学物質の Ames 試験結果の判定に際しては、10 年以上前から QSAR の導入が検討されており、予測結果が参考データとして審議会に提供されてきた。しかし、現時点では Ames 試験の代替には至っていない。本分担研究では Ames/QSAR ツールの予測性の評価、化審法への実装に向けた改良と戦略に関する研究を行う。

これまでの研究で我々は、Ames/QSAR の予測性の向上には QSAR ツールの改良だけでなく、Ames 試験法や、評価方法の変更も重要であることを主張してきた³⁾。一般に、標準的な Ames 試験は TA100、TA1535、WP2 uvrA、TA98、TA1537 の 5 菌株を用い、代謝活性化存在下、非存在下の 2 条件で、用量設定試験、本試験 (計 20 試験) が実施される。試験濃度を 5 用量以上設定すると、そのデータ数は 1 物質で 100 以上となり、このうち 1 つでも陰性対照の 2 倍を超える復帰変異体が認められると陽性と判定される (2 倍法)。しかしながら 2 倍法は経験的な判定法であり、科学的根拠に乏しい。また用量相関性なども多くの場合無視される。従って、一部の試験菌株の 1 用量での 2 倍をわずかに超えるような弱い陽性反応は生物学的妥当性を欠き、再現性が低い。Ames 試験結果の施設間一致率は 80-85% 程度とされるが、その理由は 2 倍程度の equivocal もしくは inconclusive の陽性反応の存在によるものと考えられる。このような陽性反応は陰性と判定することが現実的であり、同時に適切な Ames/QSAR モデルの開発に繋がるものとする。

2017 年に開催された International

Workshop on Genotoxicity Testing (IWGT)の Ames 試験グループは TA1535、TA1537、および WP2 *uvrA* 株の結果には生物学的妥当性を欠く陽性反応が見られ、TA100、TA98 株のみでほとんどの変異原物質を検出するのに十分であると報告した³⁾。TA100、TA98 株は損傷乗り越え型ポリメラーゼ DNA を含む pKM101 プラスミドが導入され、DNA 損傷に対してエラーを起こしやすい高感受性株であり、理論的には TA1535、TA1537 株より感度が高い。それでも、7%程度は TA1535、TA1537 株のみで陽性反応を示す。その原因は不明であるが、TA1535、TA1537 株の陰性バックグラウンドが低い⁴⁾ため、2 倍法で判定した場合、容易に陽性判定となることが考えられる。また、WP2 *uvrA* 株は AT 部位特異的な突然変異を誘発する菌株であるが、そのような特異的な変異原性物質は極めて少ないことが報告されている。

我々が実施した Ames/QSAR 国際チャレンジプロジェクトに利用した Ames 試験データは労働安全衛生法（安衛法）に基づいて試験された Ames 試験であるが、この試験結果も陽性判定に疑問があるものが多い。特に安衛法では標準的な Ames 試験にはないガス暴露法がしばしば採用されている。その最高用量は大気に対して 50%以上と極めて高濃度であり、多くの場合、WP2 *uvrA* 株のみ陽性反応を示す。このようなことから Ames 試験に関しては使用する菌株や、判定方法を見直すべきである。しかしながら、Ames 試験は OECD ガイドラインとして 1983 年に採用され、1997 年に一部改訂が行われたが、基本的には 40 年以上その方法や評価法が見直されたことはな

い。2017 年の IWGT の Ames 試験グループの提言は画期的と言える。

本研究では、この提言に従い、これまで蓄積された Ames 試験データベースを見直し、TA100、TA98 株の試験結果からなる Ames 試験データベースを構築し、QSAR の予測結果を再検討する。QSAR による Ames 試験結果の予測性の向上を QSAR モデルの改良だけでなく、Ames 試験結果の評価側からアプローチすることが本研究の狙いである。

B. 研究方法

第一回 Ames/QSAR チャレンジプロジェクトで利用したクエリー化合物 12,140 物質は、安衛法、GLP に従って企業が実施した Ames 試験からなり、厚生労働省労働基準局安全衛生部 化学物質対策課化学物質評価室から提供された（旧データベース）¹⁾。本 Ames 試験は OECD および安衛法ガイドラインに従い、TA100、TA1535、WP2 *uvrA*、TA98、TA1537 の 5 菌株で実施され、陽性もしくは陰性と判定されている。陽性の定義は原則として少なくとも 1 菌株で代謝活性化、非代謝活性化のいずれかの条件で、最低 1 用量で陰性対照の 2 倍以上の復帰突然変異体観察された場合とする。さらにその Ames 陽性物質は 2 種類に分類される。すなわち A 物質は強い陽性であり、被験物質 1mg 当たり 1000 以上の復帰突然変異体が観察された場合であり、それ以外の陽性物質は B 物質と分類される。陰性は C 物質と定義する。この旧データベースから、TA100 と TA98 の結果のみからなる新たなデータベースを構築した（新データベース）。

両データベースの物質について QSAR により Ames 変異原性を予測した。QSAR

評価には、代表的な商業用 QSAR モデルである統計ベース型の CASE Ultra (MultiCASE, USA ; ver. 1.9.0.2, GT1_BMUT module ver. 1.8.0.1、以下 CASE Ultra)、および知識ベース型の DEREK Nexus (Lhasa Limited, UK ; ver. 6.2.1, Nexus 2.5.2, 以下 DEREK NEXUS) を用いた。

QSAR の判定基準は以下のように設定した。CASE Ultra では陽性の計算結果は%で表示されるが、50%以上を陽性と判定し、それ以外は陰性と判定した。DEREK NEXUS の結果は「PROBABLE」、「PLAUSIBLE」、「EQUIVOCAL」、「INACTIVE」と表示されるが、「INACTIVE」を陰性とし、それ以外は陽性と判定した。本データベースは Ames/QSAR チャレンジプロジェクトにおいて MultiCASE 社、Lhasa 社に提供されており、判定結果が「Known Positive」もしくは、「Known Negative」と表示されることもあるが、これは無視した。この結果と上記の判定基準による結果が必ずしも一致しない。

得られた予測結果を実際の Ames 試験結果と比較し、予測性能を評価した。本年度は陽性物質 (A,B) に注目し、陽性物質検出能力 (Sensitivity) を評価した。

C. 結果及び考察

第一回 Ames/QSAR チャレンジプロジェクトオリジナル (旧) データベースには 12,140 物質が登録されている。内訳は、A 物質 (強い陽性) : 672 (5.5%)、B 物質 (陽性) : 1,085 (8.9%)、C 物質 (陰性) : 10,383 (85.5%)である (表 1)。一部の試験については試験報告書が入手できず、菌株情報が得られなかったため (表 2)、最終的には 11,932

データを利用し TA100 と TA98 からなる新規データベースを構築した (表 3)。内訳は、A : 605 (5.07%)、B : 936 (7.84%)、C : 10,391 (87.1%)である。旧データベース (12,140) と新データベース (11,932) の化合物の Ames 変異原性を 2 つの QSAR モデル CASE Ultra (統計ベース) と、DEREK Nexus (知識ベース) を用いて Ames 変異原性予測能力を検討する。本年度は、A、B 物質に対する陽性検出力 (Sensitivity) を検討した。

このデータベースの変更により陽性物質は (A+B) は 1,757 から 1,277 (72.7%) に減少した。2017 年の IWGT の Ames 試験グループも Leadscope 社、Lhasa 社の Ames 試験データベースを用いて同様に TA100 と TA98 からなる新規データベースを作成している³⁾。オリジナルデータベース 9,978 物質の内、陽性物質は 4,101 物質、この内 TA100、TA98 のみで陽性を示す物質は 3,822 (93.2%) であった。この違いは、Leadscope 社、Lhasa 社の Ames 試験データベースには、既存の変異原物質を多く含まれ、菌株に依存しない明らかな陽性結果が多いためと考えられる。実際、このデータベースの陽性物質の割合は 41%であり、我々の旧データベースの 14.4%より遙かに高い。Leadscope 社、Lhasa 社 Ames 試験データベースから、専門家判断で意味のない陽性物質を取捨選択し、TA100、TA98 の結果のみから変異原性を判断するとした提言は重要であったが、QSAR の予測能力の比較には適さない。新規化学物質からなる我々の Ames 試験データベースだけが、今回のような解析を可能とする。

A 物質の検出力は CASE Ultra では旧データベースが 82.0%、新データベースが 82.9%、DEREK NEXUS では旧データベー

スが 77.0%、新データベースが 78.0%と顕著な向上は認められなかった(表 4)。一方、B 物質の検出力は CASE Ultra では旧データベースが 47.3%、新データベースが 50.6%、DEREK NEXUS では旧データベースが 46.4%、新データベースが 51.5%と検出力は顕著に向上した(表 5)。陽性物質全体(A+B)の検出力は CASE Ultra では旧データベースが 60.9%、新データベースが 65.2%、DEREK NEXUS では旧データベースが 58.4%、新データベースが 63.4%と検出力は同様に向上した(表 6)。この結果は、A 物質の多くは明らかな変異原性物質であり、菌株の反応性に依存しないため、QSAR の陽性予測に影響を与えないのに対して、B 物質の陽性反応、特に TA100、TA98 以外の陽性結果は曖昧なものが多く、これらを除くことにより、QSAR の陽性予測が向上することを示している。

第一回 Ames/ QSAR チャレンジプロジェクトには CASE Ultra と、DEREK Nexus も旧バージョンで参加しているが、その時のそれぞれの陽性検出能力 (Sensitivity) は 58.5%、55.9%であった(平均)¹⁾。これに比べると、旧データベース、新データベースでも数値は増加していることから、陽性物質検出能力の向上には、新規データベースの構築だけでなく QSAR モデルの改良も一因となっているものと考えられる。

CASE Ultra と、DEREK Nexus をバッテリーとして利用した場合の陽性検出能力も評価した。すなわち、2 つ QSAR の内 1 つでも陽性であった場合、陽性と判定する。A 物質の検出力は旧データベースが 89.0%、新データベースが 90.0%と顕著な向上は認められなかったが(表 7)、B 物質では旧デ

ータベースが 59.0%、新データベースが 63.0%と単独解析と同様に顕著な向上が認められた(表 8)。陽性物質全体 (A+B) でも 71%から 75%に向上した(表 9)。このバッテリー解析結果を図 1~3 に示す。陽性物質全体では 53%が両 QSAR で陽性を示し、CASE Ultra 単独では 12%、DEREK Nexus 単独では 10%が陽性を示した。このことは CASE Ultra と、DEREK Nexus の検出能力はほぼ同等であり、単独では検出できない部分を互いに補っている。これはこれら 2 つの QSAR のバッテリーがスクリーニングとして非常によく機能していることを示している。陽性検出能力 (Sensitivity) は 75%と評価できた。全体的な予測能力 (Accuracy) は次年度に陰性予測率 (Specificity) の解析結果を組み合わせる予定である。

一方、A物質でありながら2つのQSARモデルで陽性と判定できない物質(偽陰性)が56物質あった(10%)(表7、図1)。これら56物質の試験報告書を調査し、その陽性反応の強さ、菌株依存性、用量依存性、再現性などを確認した。その結果、39物質は明らかな陽性(A物質は妥当)と判定された(表10)。これら物質の化学構造からアラート構造を抽出し、QSARモデルに組み込むことが重要である。

QSARによるAmes試験の代替には、高い予測精度が重要である。Ames試験法、評価方法の見直しが重要であり、試験結果の再評価と、QSARモデルの改良のクロストークが、真の変異原性評価と、精度の高いQSARモデル開発に繋がるものとする。

D. まとめ

Ames 試験は TA100 と TA98 菌株の結果

だけで評価可能であるとする IWGT の提言に従い、TA100、TA98 の Ames 試験結果のみからなる新規データベースを構築した。新規データベースは、A 物質（強い陽性）：574（4.8%）、B 物質（陽性）：703（5.9%）、C 物質（陰性）：10,655（89.3%）、合計 11,932 化合物からなる。旧データベース（12,140）と新データベース（11,932）の化合物の Ames 変異原性を CASE Ultra（統計ベース）と、DEREK Nexus（知識ベース）の 2 つの QSAR モデルで予測した。A 物質の検出力に関しては、両 QSAR モデルとも新データベースでの検出力の向上は顕著でなかったが、B 物質に関しては両 QSAR モデルとも約 5% の増加が認められた。また、2 つの QSAR モデルをバッテリーとして利用することにより、A 物質の 90%、B 物質の 63% を陽性と判定でき、総合陽性検出力（A+B）は 75% であり、旧データベースでの 71% を顕著に上回るものであった。また、A 物質でありながら両 QSAR モデルで陽性と判定できない物質が 56 化合物あった（10%）。その原因解明が更なる予測性の向上に繋がる。

E. 研究発表

E-1. 論文発表

- Masamitsu Honma, Guidelines for the Assessment and Control of Mutagenic Impurities in Pharmaceuticals. Genes and Environment (2025) 47:26.
- Kei-ichi Sugiyama, Ayako Furuhashi, Katsuyoshi Horibata, Masataka Tsuda, Kazuki Izawa, Genichiro Tsuji, Yosuke Demizu, Kohei Matsushita, Takeshi Toyoda, Yoko Hirabayashi, Yoshiro Saito, Masamitsu Honma. Assessment of mutagenic potential

of puberulic acid contaminated in red yeast rice (beni-koji) health food supplements. Mutagenesis, (2026) 41, 110–118.

E-2. 学会発表

特になし

F. 知的所有権の取得状況

F-1. 特許取得

該当なし

F-2. 実用新案登録

該当なし

F-3. その他

該当なし

G. 引用文献

- 1) Honma M, Kitazawa A, Cayley A, Williams RV, Barber C, Hanser T, Saiakhov R, Chakravarti S, Myatt GJ, Cross KP, Benfenati E, Raitano G, Mekenyan O, Petkov P, Bossa C, Benigni R, Battistelli CL, Giuliani A, Tcheremenskaia O, DeMeo C, Norinder U, Koga H, Jose C, Jeliaskova N, Kochev N, Paskaleva V, Yang C, Daga PR, Clark RD, Rathman J. Improvement of quantitative structure-activity relationship (QSAR) tools for predicting Ames mutagenicity: outcomes of the Ames/QSAR International Challenge Project. Mutagenesis. (2019) 34(1):3-16.
- 2) Honma M, An Assessment of Mutagenicity of Chemical Substances

- by (Quantitative) Structure–Activity Relationship. *Genes and Environment*. (2020) 42:23.
- 3) Williams R, DeMarini M, Stankowski Jr L, Escobar P, Zeiger E, Howe J, Elespuru R, Cross K. Are all bacterial strains required by OECD mutagenicity test guideline TG471 needed? *Mutat Res Gen Tox En* (2019) 848 503081.

表 1

第一回 Ames/ QSAR チャレンジプロジェクト
オリジナルデータベース

Original chemical: 12140		
A 結果：	672	5.5 %
B 結果：	1085	8.9 %
C 結果：	10383	85.5 %

表 2

新規データベース（菌株情報あり）

菌株評価可能データ：11932		
A 結果：	605	5.07 %
B 結果：	936	7.84 %
C 結果：	10391	87.1 %

*報告書（菌株情報）無しが1446、ただし、内陰性1238は
C結果として利用可能（208が利用不可）

表 3

TA100、TA98 の結果のみからなる改良データベース

菌株評価可能データ：11932		
A 結果：	574	4.81 %
B 結果：	703	5.89 %
C 結果：	10655	89.3 %

*内訳

A結果：10がBへ、21がCへ； $605 - 31 = 574$

B結果：243がCへ、10がAから追加； $936 - 243 + 10 = 703$

C結果：Aから21、Bから243が追加； $10391 + 21 + 243 = 10655$

表 4

A 物質陽性予測判定率；CASE Ultra, DEREK Nexus 個別解析

A		CASE Ultra			
		陽性率 (%)			陽性判定率:(50-100)/total
	化合物数	0-40	40-50	50-100	
旧データベース	605	62	47	496	0.820
新規データベース	574	56	42	476	0.829

A		DEREK NEXUS			
		判定			陽性判定率:(E+P))/total
	化合物数	Inactive(I)	Equivocal(E)	Plausible/Probable(P)	
旧データベース	605	139	42	424	0.770
新規データベース	574	126	42	406	0.780

表 5

B 物質陽性予測判定率；CASE Ultra, DEREK Nexus 個別解析

B		CASE Ultra			
		陽性率 (%)			陽性判定率:(50-100)/total
	化合物数	0-40	40-50	50-100	
旧データベース	936	424	69	443	0.473
新規データベース	703	294	53	356	0.506

B		DEREK NEXUS			
		判定			陽性判定率:(E+P))/total
	化合物数	Inactive	equivocal	Plausible/Probable(P)	
旧データベース	936	502	67	367	0.464
新規データベース	703	341	55	307	0.515

表 6

全陽性物質（A+B）陽性予測判定率；CASE Ultra, DEREK Nexus 個別解析

Total		CASE Ultra			
		陽性率 (%)			陽性判定率:(50-100)/total
	化合物数	0 – 40	40 – 50	50 – 100	
旧データベース	1541	486	116	939	0.609
新規データベース	1277	350	95	832	0.652

Total		DEREK NEXUS			
		判定			陽性判定率: (E+P))/total
	化合物数	Inactive(I)	Equivocal(E)	Plausible/Probable(P)	
旧データベース	1541	641	109	791	0.584
新規データベース	1277	467	97	713	0.634

表 7

A 物質陽性予測判定率；CASE Ultra, DEREK Nexus バッテリー解析

A		CASE Ultra + DEREK Nexus				
	化合物数	どちらも陽性	CASE Ultraのみ陽性	DEREK Nexusのみ陽性	どちらも陰性	どちらかで陽性（検出率）
旧データベース	605	422	74	44	65	540
	%	0.70	0.12	0.07	0.11	0.89
新規データベース	574	406	70	42	56	518
	%	0.71	0.12	0.07	0.10	0.90

表 8

B 物質陽性予測判定率；CASE Ultra, DEREK Nexus バッテリー解析

B		CASE Ultra + DEREK Nexus				
	化合物数	どちらも陽性	CASE Ultraのみ陽性	DEREK Nexusのみ陽性	どちらも陰性	どちらかで陽性（検出率）
旧データベース	936	329	105	114	388	548
	%	0.35	0.11	0.12	0.41	0.59
新規データベース	703	271	85	86	261	442
	%	0.39	0.12	0.12	0.37	0.63

表 9

全陽性物質（A+B）陽性予測判定率；CASE Ultra, DEREK Nexus バッテリー解析

Total		CASE Ultra + DEREK Nexus				
	化合物数	どちらも陽性	CASE Ultraのみ陽性	DEREK Nexusのみ陽性	どちらも陰性	どちらかで陽性（検出率）
旧データベース	1541	751	179	158	453	1088
	%	0.49	0.12	0.10	0.29	0.71
新規データベース	1277	677	155	128	317	960
	%	0.53	0.12	0.10	0.25	0.75

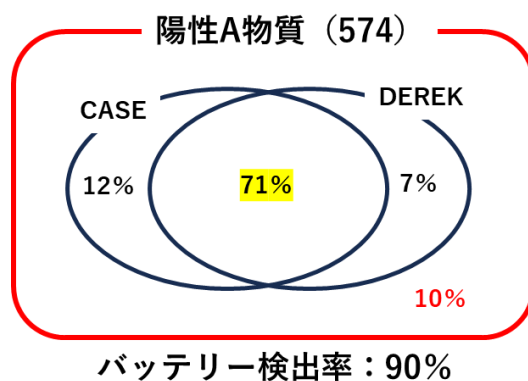


図1 A物質バッテリー陽性予測判定率

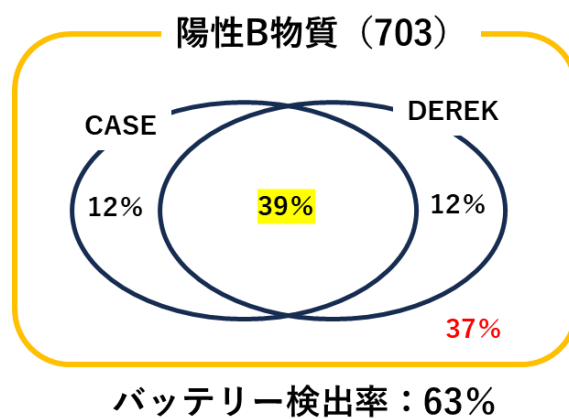


図2 B物質バッテリー陽性予測判定率

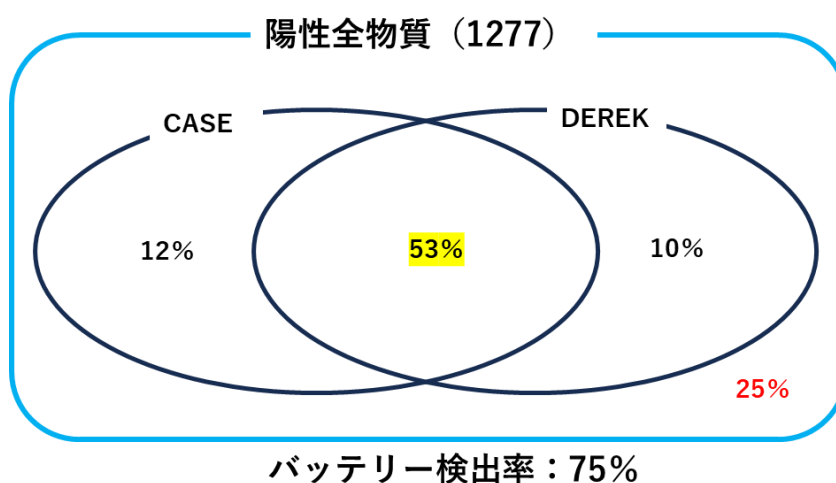


図3 陽性全物質 (A+B) 物質バッテリー陽性予測判定率

表 10

両QSARで陽性と判定されない56のA物質の試験報告書からの評価

強い陽性は妥当	39
陽性ではあるが、強いとは言えない*)	12
陰性（記載ミス）	2
報告書無し	3
合計	56

* 陰性対照の3倍以下、再現性がない、用量相関性がない

令和 7 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）
Ames/QSAR の化審法新規審査への実装に関する研究

分担報告書名: 化審法において Ames 試験を QSAR に代替するための問題点の整理と、その克服法に関する研究

研究分担者 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
ゲノム安全科学部

研究要旨

化審法に基づく新規化学物質審査では、Ames変異原性試験が人健康影響評価項目の一つとして用いられているが、その代替・補完手法としてQSARの活用が期待されている。本分担研究では、化審法の審査シート（2001年9月～2024年3月）からAmes試験結果を有する3,225物質を抽出し、構造情報を整備したうえで、知識ベース型の Derek Nexus および統計ベース型の CASE Ultra を用いてQSAR評価を行った。重複、塩、立体異性体等を整理した結果、評価対象は1,608物質となり、このうち Ames試験陰性は1,456物質、陽性は152物質であった。単独QSARでは、Derek の Accuracy、NPV、Sensitivity はそれぞれ87.3%、94.5%、49.3%であり、CASE Ultra ではそれぞれ89.9%、96.4%、64.2%であった。一方、2系統QSARを併用すると、NPVおよびSensitivityが向上し、Inconclusive および Out of domain を陽性側に含めた条件では、Sensitivityは76.3%、NPV は97.1%に達した。その反面、PPVおよびSpecificityは低下し、偽陽性の増加が認められた。以上より、2系統QSARの併用は、偽陽性の増加と引き換えに偽陰性を抑制し、より安全側に評価する傾向を示した。この結果は、見逃し回避を重視する化審法審査の運用方針と整合しており、2系統QSARは、Ames試験結果を補完し、規制評価における判断材料を拡充する手法として有用である可能性が示された。

研究協力者

正田卓司: 国立医薬品食品衛生研究所 有機化学部・室長

山田隆史: 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 毒性部・部長

松村奨士: 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

A. 研究目的

現在、我が国では、化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）に基づく新規化学物質の審査において、変異原性、急性毒性、難分解性および生物蓄積性などの有害性情報に基づく評価が行われている。人健康影響に関する評価項目の一つとして Ames 変異原性試験が用いられてきたが、その代替および補完手法として、in silico 評価手法である QSAR の導入も長年検討され、

参考情報として活用されてきた。一方、医薬品分野では、ICH M7 において、DNA 反応性 (変異原性) 不純物の評価に相補的な 2 種類の (Q)SAR の活用が認められている。近年、Ames/QSAR ツールの開発および改良は進み、とくに感度の向上が報告されているが、新規化学物質全般に対して実試験を代替しうるかについては、なお十分な検証が必要である。そこで本研究では、化審法に基づき審査された新規化学物質を対象として、Ames 試験の代替候補として QSAR が利用可能であることを検証することを目的とした。具体的には、対象化合物の構造式、CAS 登録番号および Ames 試験結果を整理した上で、構造式データに対して 2 種類の QSAR ツール [知識ベース型: Derek Nexus、統計ベース型: CASE Ultra] を適用し、Ames 試験結果との一致状況を比較した。そのうえで、感度、特異度、陽性的中率、陰性的中率および Balanced accuracy 等を算出し、化審法における QSAR 活用の妥当性と課題を検討した。

B. 研究方法

化審法の審査シート (2001 年 9 月から 2024 年 3 月まで、計 8,598 物質) から、Ames 試験結果を有する 3,225 物質を抽出した。このうち、ポリマー、混合物等、QSAR 評価に適さない物質を除外したうえで、審査シート、SciFinder および PubChem 等を参照して構造情報を収集し、SMILES を作成した。金属カチオン塩については、対イオンを除去し、対応する遊離酸型とした。

重複化合物および塩を整理した後に、対応する Ames 試験結果が一致しない場合は、当該化合物を解析対象から除外した。ま

た、立体配置が特定できない化合物、あるいは複数の立体異性体が区別されずに扱われている化合物についても除外した。

QSAR 評価には、代表的な商業用 QSAR モデルである知識ベース型の Derek Nexus (Lhasa Limited, UK ; ver. 6.2.1、Nexus 2.5.2、以下 Derek) および統計ベース型の CASE Ultra (MultiCASE, USA ; ver. 1.9.0.2、GT1_BMUT module ver. 1.8.0.1、以下 CASE Ultra) を用いた。得られた予測結果を Ames 試験結果と比較し、予測性能を評価した。

QSAR の判定基準は以下のように設定した。Derek では、「PROBABLE」、「PLAUSIBLE」および「EQUIVOCAL」を陽性、「INACTIVE」を陰性とした。CASE Ultra では、「Known Positive」および「Positive」を陽性、「Known Negative」および「Negative」を陰性とした。また、CASE Ultra が「Inconclusive」または「Out of domain」を示した場合は、それぞれ独立した区分として取り扱った。2 系統併用評価では、両者が陰性の場合を陰性、いずれか一方でも陽性の場合を陽性とした。

Ames 試験結果については、「強い陽性」「軽微な陽性」「陽性」をすべて陽性に統一し、陰性と二値化した。なお、陽性物質については、比活性値 (rev./mg) も参照した。

予測性能は、Ames 試験が陰性で QSAR が陰性を示したものを真陰性 (True Negative, TN)、Ames 試験が陰性で QSAR が陽性を示したものを偽陽性 (False Positive, FP)、Ames 試験が陽性で QSAR が陰性を示したものを偽陰性 (False Negative, FN)、Ames 試験が陽性で QSAR が陽性を示したものを真陽性 (True Positive, TP) として定義し、陽性的中率 (Positive Prediction Value, PPV)、

陰性的中率 (Negative Prediction Value, NPV)、感度 (Sensitivity)、特異度 (Specificity)、正確度 (Accuracy)、Balanced Accuracy および F1 スコアを以下の計算式により算出した。F1 スコアは、PPV と Sensitivity の調和平均であり、陽性判定における的中性と検出性をあわせて評価する指標として用いた。

$$PPV = TP / (TP + FP)$$

$$NPV = TN / (TN + FN)$$

$$Sensitivity = TP / (TP + FN)$$

$$Specificity = TN / (TN + FP)$$

$$Accuracy = (TP + TN) / (TP + FP + TN + FN)$$

$$Balanced\ Accuracy = (Sensitivity + Specificity) / 2$$

$$F1\ score = 2 \times PPV \times Sensitivity / (PPV + Sensitivity)$$

なお、F1 スコアは以下の式でも表される。

$$F1\ score = 2TP / (2TP + FP + FN)$$

C. 結果及び考察

重複化合物等を除外した結果、評価対象は 1609 物質となった。このうち、Ames 試験陰性化合物は 1457 物質 (90.6%)、陽性化合物は 152 物質 (9.4%) であった。Ames 試験に対する QSAR の予測結果を、Derek について表 1、CASE Ultra について表 2、2 系統併用評価について表 3 に示した。なお、CASE Ultra 単独評価ならびに 2 系統評価のうち Inconclusive および Out of domain を除外した条件では、評価対象数は 1,506 物質であった。これらの結果に基づき、表 4 に Accuracy、PPV、NPV、Sensitivity、Specificity、F1 スコア、Balanced Accuracy を示し、各 QSAR ツールの性能を比較した。また、QSAR Challenge 第 2 回 (Furuhama et al., 2023) の結果も参考にして、Derek およ

び CASE Ultra の単独モデルに加え、両者を組み合わせた 2 系統モデルについて、Inconclusive および Out of domain の取り扱いの違いを含めて評価した。

Derek 単独では、TN = 1329、FP = 127、FN = 77、TP = 75 であり、Accuracy 87.3%、PPV 37.1%、NPV 94.5%、Sensitivity 49.3%、Specificity 91.3%、F1 スコア 42.4%、Balanced Accuracy 70.3%であった。一方、CASE Ultra 単独では、TN = 1268、FP = 104、FN = 48、TP = 86 であり、Accuracy 89.9%、PPV 45.3%、NPV 96.4%、Sensitivity 64.2%、Specificity 92.4%、F1 スコア 53.1%、Balanced Accuracy 78.3%であった。なお、Derek および CASE Ultra のいずれにおいても QSAR 評価ができなかった物質が 1 物質 (Ames 試験は陰性) 存在した。単独 QSAR においても Accuracy および NPV は比較的高い値を示し、QSAR で陰性と判定された化合物の多くが Ames 試験でも陰性であった。ただし、本データセットでは Ames 陰性化合物が全体の 90.5% を占めているため、Accuracy や NPV は高く出やすく、これらの指標のみで予測性能を評価することには注意が必要である。

2 系統 QSAR を併用した場合、Inconclusive および Out of domain を除外した条件では、Accuracy 86.3%、PPV 36.4%、NPV 97.1%、Sensitivity 73.1%、Specificity 87.5%、F1 スコア 48.6%、Balanced Accuracy 80.3%であった。また、Inconclusive および Out of domain を陽性側に含めた条件では、Accuracy 81.9%、PPV 31.3%、NPV 97.1%、Sensitivity 76.3%、Specificity 82.5%、F1 スコア 44.4%、Balanced Accuracy 79.4%であった。このように、2 系統 QSAR を併用した場合、

単独ツールと比較して NPV および Sensitivity が向上し、とくに Inconclusive および Out of domain を陽性側に含めた条件では、Ames 陽性化合物の見逃しを減らす方向に働くことが示された。一方で、PPV および Specificity は低下しており、これは Ames 陰性化合物の一部を陽性と判定する、いわゆる偽陽性が増加したことによるものと考えられる。

以上より、2 系統 QSAR の併用は、偽陽性の増加と引き換えに偽陰性を抑制し、より安全側に評価する傾向を示した。この特性は、見逃しをできるだけ避けることが求められる化審法審査の運用方針と整合的であり、2 系統 QSAR は規制評価における補助的手法として有用である可能性が示唆された。なお、2 系統 QSAR により偽陰性 (36 物質) および偽陽性 (255 物質) を示した化合物のリストをそれぞれ表 5 および表 6 に示す。ただし、化合物情報は非公開情報を含むため、本報告書には化合物 ID、Ames 試験結果、Derek の判定結果および CASE Ultra の判定結果のみを示した。QSAR の結果が Ames 試験と一致したものについては省略した。

D. まとめ

本研究では、化審法の審査シートから整理した 1608 物質を対象として、Ames 試験結果と QSAR 予測結果を比較し、Derek、CASE Ultra、および両者を組み合わせた 2 系統評価の性能を検討した。対象化合物の大部分は Ames 陰性であり、データセットは大きく不均衡であったが、単独 QSAR においても Accuracy および NPV は比較的高く、QSAR で陰性と判定された化合物の

多くが Ames 試験でも陰性であった。一方で、感度は Derek で 49.3%、CASE Ultra で 64.2% にとどまり、Ames 陽性化合物の見逃しが一定数存在した。

これに対し、2 系統 QSAR を併用すると、単独モデルに比べて Sensitivity および NPV が向上し、とくに Inconclusive および Out of domain を陽性側に含めた条件では、感度は 76.3% に達した。その一方で、PPV および Specificity は低下しており、偽陽性の増加を伴うことが示された。したがって、2 系統 QSAR の併用は、偽陽性の増加と引き換えに偽陰性を抑制し、より安全側に評価する傾向を示したといえる。

この 2 系統評価の枠組みは、知識ベース型と統計ベース型の相補的利用を重視する ICH M7 の基本的考え方と整合していた。また、QSAR Challenge 第 2 回との比較からも、本研究の 2 系統評価は感度の面で改善方向を示しており、見逃し回避を重視する化審法審査の運用方針に適した特徴を有すると考えられた。以上より、2 系統 QSAR は、Ames 試験結果を補完し、規制評価における判断材料を拡充する手法として有用である可能性が示された。

E. 研究発表

E-1. 論文発表

特になし

E-2. 学会発表

特になし

F. 知的所有権の取得状況

F-1. 特許取得

別添 4

該当なし

F-2. 実用新案登録

該当なし

F-3. その他

該当なし

G. 引用文献

特になし

表 1 Ames 試験と Derek の結果

		Ames	Derek	数
真陰性	TN	陰性	陰性	1329
偽陽性	FP	陰性	陽性	127
偽陰性	FN	陽性	陰性	77
真陽性	TP	陽性	陽性	75
total				1608

表 2 Ames 試験と CaseUltra の結果

		Ames	CaseUltra	数
真陰性	TN	陰性	陰性	1268
偽陽性	FP	陰性	陽性	104
偽陰性	FN	陽性	陰性	48
真陽性	TP	陽性	陽性	86
				1506

表 3 2 系統での QSAR 結果

		Ames	2 系統 QSAR	数
真陰性	TN	陰性	両方とも陰性	1201
偽陽性	FP		どちらかが陽性	124
			両方とも陽性	47
			Inconclusive	30
			Out of Domain	54
偽陰性	FN	陽性	両方とも陰性	36
真陽性	TP	陽性	どちらかが陽性	40
			両方とも陽性	58
			Inconclusive	10
			Out of Domain	8
				1608

表 4 QSAR 性能評価

	QSAR Challenge 2	Derek	CaseUltra	2 系統 (-inc,OOD)	2 系統 (+inc,OOD)
正確度 Accuracy	80.4 (71.5-86.8)	87.3%	89.9%	86.3%	81.9%
陽性的中率 PPV	41.7 (27.5-60.3)	37.1%	45.3%	<u>36.4%</u>	<u>31.3%</u>
陰性的中率 NPV	91.3 (87.9-95.0)	94.5%	96.4%	<u>97.1%</u>	<u>97.1%</u>
感度 Sensitivity	52.0 (23.7-76.9)	49.3%	64.2%	<u>73.1%</u>	<u>76.3%</u>
特異度 Specificity	85.2 (72.7-96.9)	91.3%	92.4%	87.5%	82.5%
F1 スコア	43.7 (30.4-53.8)	42.4%	53.1%	48.6%	44.4%
Balanced Accuracy	68.6 (59.2-78.5)	70.3%	78.3%	80.3%	79.4%

別添 4

表5 偽陰性：36物質

A No.	Ames	Derek 結果	Case 結果
A0968	陽性	INACTIVE	Known Negative
A1842	陽性	INACTIVE	Known Negative
A2120	陽性	INACTIVE	Known Negative
A2749	陽性	INACTIVE	Known Negative
A3547	陽性	INACTIVE	Known Negative
A3574	陽性	INACTIVE	Known Negative
A5721	陽性	INACTIVE	Known Negative
A9325	陽性	INACTIVE	Known Negative
A0470	陽性	INACTIVE	Negative
A0767	陽性	INACTIVE	Negative
A0769	陽性	INACTIVE	Negative
A0939	陽性	INACTIVE	Negative
A1039	陽性	INACTIVE	Negative
A1480	陽性	INACTIVE	Negative
A1723	陽性	INACTIVE	Negative
A2005	陽性	INACTIVE	Negative
A3099	陽性	INACTIVE	Negative
A3414	陽性	INACTIVE	Negative
A3573	陽性	INACTIVE	Negative
A4084	陽性	INACTIVE	Negative
A4156	陽性	INACTIVE	Negative
A4958	陽性	INACTIVE	Negative
A5581	陽性	INACTIVE	Negative
A6672	陽性	INACTIVE	Negative
A6992	陽性	INACTIVE	Negative
A7106	陽性	INACTIVE	Negative
A7371	陽性	INACTIVE	Negative
A7476	陽性	INACTIVE	Negative
A7485	陽性	INACTIVE	Negative
A7498	陽性	INACTIVE	Negative
A8266	陽性	INACTIVE	Negative
A8360	陽性	INACTIVE	Negative

A No.	Ames	Derek 結果	Case 結果
A8440	陽性	INACTIVE	Negative
A8685	陽性	INACTIVE	Negative
A8756	陽性	INACTIVE	Negative
A8984	陽性	INACTIVE	Negative

別添 4

表6 偽陽性：255物質

A No.	Ames	Derek 結果	Case 結果
A0074	陰性	PLAUSIBLE	Known Positive
A3417	陰性	PLAUSIBLE	Known Positive
A0016	陰性	PLAUSIBLE	Positive
A0204	陰性	PLAUSIBLE	Positive
A0253	陰性	PLAUSIBLE	Positive
A0613	陰性	PLAUSIBLE	Positive
A0740	陰性	PLAUSIBLE	Positive
A0849	陰性	PLAUSIBLE	Positive
A1078	陰性	PLAUSIBLE	Positive
A1090	陰性	PLAUSIBLE	Positive
A1251	陰性	PLAUSIBLE	Positive
A1433	陰性	PLAUSIBLE	Positive
A1918	陰性	PLAUSIBLE	Positive
A1926	陰性	PLAUSIBLE	Positive
A2131	陰性	PLAUSIBLE	Positive
A2841	陰性	PLAUSIBLE	Positive
A3276	陰性	PLAUSIBLE	Positive
A3797	陰性	PLAUSIBLE	Positive
A3799	陰性	PLAUSIBLE	Positive
A3879	陰性	PLAUSIBLE	Positive
A4394	陰性	PLAUSIBLE	Positive
A4441	陰性	PLAUSIBLE	Positive
A4698	陰性	PLAUSIBLE	Positive
A4700	陰性	PLAUSIBLE	Positive
A5071	陰性	PLAUSIBLE	Positive
A5332	陰性	PLAUSIBLE	Positive
A5333	陰性	PLAUSIBLE	Positive
A5514	陰性	PLAUSIBLE	Positive
A5732	陰性	PLAUSIBLE	Positive
A5851	陰性	PLAUSIBLE	Positive
A5859	陰性	PLAUSIBLE	Positive
A5867	陰性	PLAUSIBLE	Positive

A No.	Ames	Derek 結果	Case 結果
A6130	陰性	PLAUSIBLE	Positive
A6133	陰性	PLAUSIBLE	Positive
A6157	陰性	PLAUSIBLE	Positive
A6668	陰性	PLAUSIBLE	Positive
A6863	陰性	PLAUSIBLE	Positive
A7124	陰性	PLAUSIBLE	Positive
A7202	陰性	PLAUSIBLE	Positive
A7251	陰性	PLAUSIBLE	Positive
A7285	陰性	PLAUSIBLE	Positive
A7318	陰性	PLAUSIBLE	Positive
A7320	陰性	PLAUSIBLE	Positive
A7672	陰性	PLAUSIBLE	Positive
A8830	陰性	PLAUSIBLE	Positive
A0404	陰性	PLAUSIBLE	Known Negative
A1241	陰性	PLAUSIBLE	Known Negative
A1405	陰性	PLAUSIBLE	Known Negative
A1457	陰性	PLAUSIBLE	Known Negative
A1919	陰性	PLAUSIBLE	Known Negative
A2138	陰性	PLAUSIBLE	Known Negative
A2181	陰性	PLAUSIBLE	Known Negative
A2279	陰性	PLAUSIBLE	Known Negative
A2480	陰性	PLAUSIBLE	Known Negative
A2523	陰性	PLAUSIBLE	Known Negative
A2633	陰性	PLAUSIBLE	Known Negative
A2755	陰性	PLAUSIBLE	Known Negative
A2858	陰性	PLAUSIBLE	Known Negative
A3413	陰性	PLAUSIBLE	Known Negative
A3485	陰性	PLAUSIBLE	Known Negative
A3560	陰性	PLAUSIBLE	Known Negative
A3564	陰性	PLAUSIBLE	Known Negative
A3654	陰性	PLAUSIBLE	Known Negative
A3798	陰性	PLAUSIBLE	Known Negative
A5302	陰性	PLAUSIBLE	Known Negative
A5585	陰性	PLAUSIBLE	Known Negative

別添 4

A No.	Ames	Derek 結果	Case 結果
A5651	陰性	PLAUSIBLE	Known Negative
A7140	陰性	PLAUSIBLE	Known Negative
A7211	陰性	PLAUSIBLE	Known Negative
A7862	陰性	PLAUSIBLE	Known Negative
A7898	陰性	PLAUSIBLE	Known Negative
A8624	陰性	PLAUSIBLE	Known Negative
A0205	陰性	PLAUSIBLE	Negative
A0288	陰性	PLAUSIBLE	Negative
A0354	陰性	PLAUSIBLE	Negative
A0382	陰性	PLAUSIBLE	Negative
A0569	陰性	PLAUSIBLE	Negative
A0933	陰性	PLAUSIBLE	Negative
A0960	陰性	PLAUSIBLE	Negative
A1274	陰性	PLAUSIBLE	Negative
A1504	陰性	PLAUSIBLE	Negative
A1686	陰性	PLAUSIBLE	Negative
A1859	陰性	PLAUSIBLE	Negative
A2142	陰性	PLAUSIBLE	Negative
A2359	陰性	PLAUSIBLE	Negative
A2546	陰性	PLAUSIBLE	Negative
A2870	陰性	PLAUSIBLE	Negative
A2925	陰性	PLAUSIBLE	Negative
A2926	陰性	PLAUSIBLE	Negative
A3083	陰性	PLAUSIBLE	Negative
A3444	陰性	PLAUSIBLE	Negative
A3483	陰性	PLAUSIBLE	Negative
A3484	陰性	PLAUSIBLE	Negative
A3539	陰性	PLAUSIBLE	Negative
A3822	陰性	PLAUSIBLE	Negative
A4044	陰性	PLAUSIBLE	Negative
A4330	陰性	PLAUSIBLE	Negative
A5298	陰性	PLAUSIBLE	Negative
A5358	陰性	PLAUSIBLE	Negative
A5558	陰性	PLAUSIBLE	Negative

A No.	Ames	Derek 結果	Case 結果
A6248	陰性	PLAUSIBLE	Negative
A7719	陰性	PLAUSIBLE	Negative
A7743	陰性	PLAUSIBLE	Negative
A7956	陰性	PLAUSIBLE	Negative
A8169	陰性	PLAUSIBLE	Negative
A8187	陰性	PLAUSIBLE	Negative
A8665	陰性	PLAUSIBLE	Negative
A2274	陰性	PLAUSIBLE	Inconclusive
A2375	陰性	PLAUSIBLE	Inconclusive
A4877	陰性	PLAUSIBLE	Inconclusive
A5642	陰性	PLAUSIBLE	Inconclusive
A5643	陰性	PLAUSIBLE	Inconclusive
A6752	陰性	PLAUSIBLE	Inconclusive
A6976	陰性	PLAUSIBLE	Inconclusive
A8709	陰性	PLAUSIBLE	Inconclusive
A0763	陰性	PLAUSIBLE	Out of Domain
A4875	陰性	PLAUSIBLE	Out of Domain
A8897	陰性	PLAUSIBLE	Out of Domain
A8901	陰性	PLAUSIBLE	Out of Domain
A7639	陰性	EQUIVOCAL	Known Positive
A6309	陰性	EQUIVOCAL	Positive
A2754	陰性	EQUIVOCAL	Known Negative
A7399	陰性	EQUIVOCAL	Known Negative
A6137	陰性	EQUIVOCAL	Negative
A6331	陰性	EQUIVOCAL	Negative
A8087	陰性	EQUIVOCAL	Negative
A3989	陰性	EQUIVOCAL	Inconclusive
A1518	陰性	INACTIVE	Known Positive
A1683	陰性	INACTIVE	Known Positive
A3699	陰性	INACTIVE	Known Positive
A0009	陰性	INACTIVE	Positive
A0134	陰性	INACTIVE	Positive
A0143	陰性	INACTIVE	Positive
A0203	陰性	INACTIVE	Positive

別添 4

A No.	Ames	Derek 結果	Case 結果
A0363	陰性	INACTIVE	Positive
A0577	陰性	INACTIVE	Positive
A0674	陰性	INACTIVE	Positive
A0689	陰性	INACTIVE	Positive
A1022	陰性	INACTIVE	Positive
A1594	陰性	INACTIVE	Positive
A2032	陰性	INACTIVE	Positive
A2212	陰性	INACTIVE	Positive
A2283	陰性	INACTIVE	Positive
A2708	陰性	INACTIVE	Positive
A2770	陰性	INACTIVE	Positive
A3186	陰性	INACTIVE	Positive
A3253	陰性	INACTIVE	Positive
A3267	陰性	INACTIVE	Positive
A3406	陰性	INACTIVE	Positive
A3581	陰性	INACTIVE	Positive
A3645	陰性	INACTIVE	Positive
A3715	陰性	INACTIVE	Positive
A3740	陰性	INACTIVE	Positive
A3766	陰性	INACTIVE	Positive
A3928	陰性	INACTIVE	Positive
A4113	陰性	INACTIVE	Positive
A4168	陰性	INACTIVE	Positive
A4231	陰性	INACTIVE	Positive
A4242	陰性	INACTIVE	Positive
A4244	陰性	INACTIVE	Positive
A4288	陰性	INACTIVE	Positive
A4371	陰性	INACTIVE	Positive
A4404	陰性	INACTIVE	Positive
A4409	陰性	INACTIVE	Positive
A4439	陰性	INACTIVE	Positive
A4451	陰性	INACTIVE	Positive
A4581	陰性	INACTIVE	Positive
A4765	陰性	INACTIVE	Positive

A No.	Ames	Derek 結果	Case 結果
A5131	陰性	INACTIVE	Positive
A5329	陰性	INACTIVE	Positive
A5434	陰性	INACTIVE	Positive
A5465	陰性	INACTIVE	Positive
A5519	陰性	INACTIVE	Positive
A5520	陰性	INACTIVE	Positive
A5632	陰性	INACTIVE	Positive
A6967	陰性	INACTIVE	Positive
A7482	陰性	INACTIVE	Positive
A7534	陰性	INACTIVE	Positive
A7887	陰性	INACTIVE	Positive
A8229	陰性	INACTIVE	Positive
A8584	陰性	INACTIVE	Positive
A8690	陰性	INACTIVE	Positive
A9021	陰性	INACTIVE	Positive
A9036	陰性	INACTIVE	Positive
A0609	陰性	INACTIVE	Inconclusive
A0785	陰性	INACTIVE	Inconclusive
A1576	陰性	INACTIVE	Inconclusive
A1670	陰性	INACTIVE	Inconclusive
A2075	陰性	INACTIVE	Inconclusive
A3011	陰性	INACTIVE	Inconclusive
A3252	陰性	INACTIVE	Inconclusive
A3940	陰性	INACTIVE	Inconclusive
A3962	陰性	INACTIVE	Inconclusive
A4681	陰性	INACTIVE	Inconclusive
A4692	陰性	INACTIVE	Inconclusive
A4858	陰性	INACTIVE	Inconclusive
A6291	陰性	INACTIVE	Inconclusive
A7504	陰性	INACTIVE	Inconclusive
A7583	陰性	INACTIVE	Inconclusive
A7696	陰性	INACTIVE	Inconclusive
A7770	陰性	INACTIVE	Inconclusive
A8363	陰性	INACTIVE	Inconclusive

別添 4

A No.	Ames	Derek 結果	Case 結果
A8844	陰性	INACTIVE	Inconclusive
A9135	陰性	INACTIVE	Inconclusive
A9173	陰性	INACTIVE	Inconclusive
A0349	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A0350	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A0351	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A0475	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A0477	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A0562	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A0848	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A0856	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A1031	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A1163	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A1166	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A1324	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A1326	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A1642	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A1954	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A2084	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A2108	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A2167	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A2424	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A2557	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A2620	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A3025	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A3234	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A3932	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A4086	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A4470	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A4625	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A4643	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A4835	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A5428	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A5472	陰性	INACTIVE	Out of Domain

A No.	Ames	Derek 結果	Case 結果
A5625	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A5679	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A5900	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A5983	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A6141	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A6215	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A6657	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A6683	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A7190	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A7240	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A7792	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A7983	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A8333	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A8381	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A8429	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A8562	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A8836	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A8905	陰性	INACTIVE	Out of Domain
A9150	陰性	INACTIVE	Out of Domain

令和7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）
Ames/QSAR の化審法新規審査への実装に関する研究

分担報告書名：化審法における染色体異常試験の整理と、その妥当性に関する研究

研究分担者 三島雅之 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

研究要旨

本分担研究は、化審法における染色体異常試験の有用性を確認することが目的である。2011年以降にOECDおよびICHガイドラインが相次いで改定され、試験の最高濃度が緩和され、より低い処置濃度で試験実施することになった。このため、公共データベース等に登録されている多くのデータは、現在の標準試験法の性能評価には使えない。そこで本年度は、*in vitro*染色体異常試験とげっ歯類がん原性試験の両方の結果がある、比較的新しい医薬品の情報を収集した。また、日米欧の化学物質規制における染色体異常試験の利用状況を調査した。

げっ歯類発がん性の予測については、染色体異常試験の感度が低かったが、これは調査対象のほぼすべてがAmes陰性物質であり、遺伝毒性発がん物質の多くが除外されている状況なので、感度の低さをもって有用性の判断はできないと考える。一方で、最高用量が緩和されてもなお偽陽性率がかなり高い様子が見えた。Ames試験が遺伝毒性評価のファーストスクリーニングになっている世間一般の実状を踏まえれば、Ames試験に加えて染色体異常試験を実施する意味について、リスクベネフィットの視点から議論が必要かもしれない。

今回の調査で、染色体異常試験は日米欧の様々な規制で利用されている現実が確認できた。細菌と哺乳類細胞では細胞内のDNA存在様式やDNA修復機構の違いが大きいため、哺乳類細胞のデータ無しに有害性を判断することには抵抗感がある。細菌と哺乳類の違いを埋めるには何をすべきか、慎重に考えていく必要がある。

A. 研究目的

化審法において人健康影響の観点で有害性を判断するための実試験のうち、変異原性試験としては、Ames試験のほかに染色体異常試験も要求される。しかしながら、染色体異常試験は偽陽性率が高いことや、染色

体異常誘発のメカニズムは依然として不明であることも多く、実用化に耐えうるQSARも開発されていない。

本分担研究は、染色体異常試験を再評価し、化審法の新規化学物質届に対して染色体異常試験結果を活用せず評価する場合の影響について検証する。

B. 研究方法

本研究では、化審法の新規化学物質の判定時で染色体異常試験陽性と判定された化学物質をデータベース化したが、発がん性に関する情報が無いため、染色体異常試験の発がん性予測に関する評価ができなかった。

染色体異常試験の偽陽性を減らすために、医薬品ガイドラインICH S2(R1)では2011年に試験の最高用量が緩和され、その後OECDガイドラインも2014年に同様の改定が行われた。このため、公共データベース等に存在する旧来の試験法で実施された大量の登録データは、現在の試験法の性能評価には適さない。

本年度は、2018年以降に承認申請された新成分医薬品の情報を調査し、染色体異常試験（またはin vitro小核試験）とげっ歯がん原性試験（ラット2年間、マウス2年間、rasH2マウス試験のうち1試験以上）の結果がある化合物を選択し、げっ歯類発癌性の予測性について検討した。

なお、染色体異常試験とin vitro小核試験はいずれも染色体構造異常を検出し、非常に一致率が高いことが知られているため、染色体異常試験とin vitro小核試験を同等に扱った。背景データ内の異常増加については、陰性とした。げっ歯類発がん性予測についての検討を目的とするため、がん原性試験で増加した腫瘍のヒトへの外挿性については考慮せず、腫瘍の増加があれば発がん性陽性とした。

また、国内外における、染色体異常試験の行政利用の状況について調査した。

C. 結果及び考察

調査した化合物のうち Ames 試験陽性物質は 2 つのみであった。これらを除いて集計を行った。すなわち、本調査は Ames 陰性化合物についての、げっ歯類発がん予測性評価である。

合計 81 物質を調査対象とした (Table 1)。げっ歯類がん原性試験陽性物質 (1 試験以上で陽性) は 33 物質、陰性は 48 物質だった。染色体異常試験の感度 24%、特異度 77%、陽性適中率 42%、陰性適中率 40%だった。感度 24%は非常に低い、Ames 陰性化合物を調査対象としたものであり、Ames 試験によって多くの遺伝毒性発がん物質が除外されているはずなので、この数値をもって染色体異常試験の有用性を否定する決定的な材料にはならないと考えるが、Ames 試験が遺伝毒性評価のファーストスクリーニングになっている世間一般の実状を踏まえれば、Ames 試験陰性の場合に、さらに染色体異常試験を実施する意味について、議論が必要かもしれない。

一方で、染色体異常試験の偽陽性率 58% は、依然として高い数値である。発がん性陰性物質の半数以上が染色体異常試験で陽性と判定されてしまう状況は改善しなければならない。保守的な立場からは、偽陽性率が高いことは許容すべきとの考え方もあろうが、偽陰性の多い試験は結果的にコスト増に繋がりがねないことにも留意が必要である。陽性尤度比は 1.06、陰性尤度比は 0.98 と、いずれも 1 に近く、データの不均衡を補正した Matthews 相関係数は 0.015 と極めて 0 に近い値となり、実用上の有用性が低い可能性がある。

行政における染色体異常試験利用状況

は、日米欧ではほぼ同様である (Table 2)。多くの化学物質規制で、Ames 試験と並んで染色体異常試験が利用されている。Ames 試験菌株では、哺乳類と異なり DNA がクロマチン構造を取らず、細胞内の DNA 存在様式が哺乳類と大きく異なる。さらに、細菌の DNA 修復系は哺乳類とは違うこと、哺乳類細胞のみに遺伝毒性を有する化学物質が存在することが知られており、Ames 試験に加えて哺乳類細胞試験を実施することは理にかなっている。哺乳類細胞のデータなしに有害性を判断することにはかなりの抵抗感がある。細菌と哺乳類の違いを埋めるにどうすべきか、慎重に考えていく必要がある。

発がん性ハザード調査において、染色体異常試験には Ames 試験を補完する役割が期待されてきたが、今回の調査では、染色体異常試験は Ames 試験を補完することができないとの結果だった。しかしながら、細菌と哺乳類の違いは大きく、有害性評価における哺乳類細胞の利用は重要と考えられる。染色体異常試験の偽陽性率が高い理由の解明や、細菌と哺乳類の違いを埋められる適切な代替法を提案していくことが、今後の課題である。

D. まとめ

本分担研究では、Ames 陰性化合物について、染色体異常試験はげっ歯類発がん性についての予測性は限定的であることが明らかになった。

E. 研究発表

E-1. 論文発表

特になし

E-2. 学会発表

特になし

F. 知的所有権の取得状況

F-1. 特許取得

該当なし

F-2. 実用新案登録

該当なし

F-3. その他

該当なし

G. 引用文献

特になし

別添 4

Table 1 染色体異常試験とげっ歯類がん原性試験の比較

		げっ歯類がん原性試験		
		陽性	陰性	
染色体異常試験	陽性	8	11	19
	陰性	25	37	62
		33	48	81

別添 4

Table 2 日米欧の化学物質規制における染色体異常試験の利用状況

地域	分野	Ames/QSAR	Ames	in vitro CA	in vivo (CA・MN 等)	備考	出典
日米欧	医薬品	○不純物 (Ames 試験の代替として QSAR による予測が可能)	◎原体 ○不純物 (Ames 試験の代替として QSAR による予測が可能)	◎原体 (in vitro 小核試験又はマウスリンフォーマ試験) in vivo 試験を 2 つ行った場合は必須ではない	◎		ICH S2(R1)、ICH M7 R2
日本	化審法	×	◎	◎			
	安衛法	×	◎	◎Ames 試験で陽性、かつ比活性が 1,000 以上の場合			
	食品	○	—	—	—		食品健康影響評価において (Q) SAR を活用して変異原性を評価する場合の手引き

別添 4

	農薬	×	◎	◎	◎		農薬取締法に基づき農薬登録申請者が提出を義務づけられている毒性及び残留性に関する試験成績
米 国	TSCA 一般化 学物質	○（事業者によるデータ提出は可能）	規定されていない PMN *で求められる場合がある	規定されていない PMN *でマウスリンフォーマ試験が求められる場合がある	規定されていない	*PMN (Pre-Manufacture Notice) : 新規化学物質の製造前届出	
	EPA 農薬	△一部判断に利用されている	◎	◎	◎	Ames 試験の予測に関しては、他の毒性エンドポイントと比較して信頼性が高い予測が可能であるとされている。	EPA HP OCSPP/OPPTS 870 Series (Genetic Toxicity Test Guidelines)

別添 4

	FDA 食品成分	△一部判断に 利用されている	◎	◎又はマウス リンフォーマ 試験	◎	食事中の推定一日摂取量が 50ppb（一日 150μg）を超える食品成分に対して推奨される遺伝毒性試験バッテリー そのほか、累積推定食事摂取量が 1 日あたり 1.5 μg を超え、総食事の 0.5ppb に相当する場合、遺伝毒性試験の実施を検討 警告構造の有無及び遺伝毒性試験バッテリーの結果に応じて追加検査を検討する必要がある	Redbook 2000: IV.C.1. Short-Term Tests for Genetic Toxicity b. Compounds bearing structural alerts for genotoxic activity
--	-------------	-------------------	---	------------------------	---	--	---

別添 4

	FDA 食品添加物・ その他の食品 成分	△一部判断に 利用されてい る	◎	◎又はマウス リンフォーマ 試験	○ ¹⁾ ◎ ²⁾	食事中濃度 0.5 ppb を超える物質 標準バッテリーが陰性であっても、発がん試験で腫瘍発生が見られ、非遺伝毒性メカニズムが示せない場合、より詳細な遺伝毒性試験（代謝条件変更、in vivo 試験など）を検討 1) 0.5 ppb ～ 50 ppb 2) 50 ppb< ある構造クラスでは発がん性試験で評価されない場合、より広範な遺伝毒性評価が必要となる可能性がある	Redbook 2000: IV.C.1. Short-Term Tests for Genetic Toxicity b. Compounds bearing structural alerts for genotoxic activity
--	-------------------------------	-----------------------	---	------------------------	------------------------------------	---	---

別添 4

	FDA 食品接 触物質	△TOR (Threshold of Regulation: 0.5 ppb) 適用 前のスクリー ニングや遺伝 毒性懸念物質 除外判断の補 助ツールとし て利用	◎	◎又はマウス リンフォーマ 試験	○ ¹⁾ ◎ ²⁾	cumulative estimated daily intake FCS の溶出量に応じて in vivo CA・MN が必要 1) 0.5 ppb ~ 50 ppb 2) 50 ppb ~1 ppm 0.5 ppb ≧: 必須の試験 なし 1 ppm ≦: 食品添加物の 規則を遵守	Preparation of Food Contact Substance Notifications (Toxicology Recommendations): Guidance for Industry
	化粧品 規制近 代化法 (MoCRA) 化粧品	試験バツテリ ーなし	試験バツテリ ーなし	試験バツテリ ーなし	試験バツテリ ーなし		
欧 州	ECHA 一般化 学物質	○ (事業者に よるデータ提 出は可能)	◎ (≥10 t/y)	◎ (≥10 t/y)	◎in vitro 陽 性時	Annex VIII (≥10 t/y)	Standard information requirements

別添 4

	Efsa 食品添 加物・ 食品成 分	△補助的利用 は許容	◎	◎ (in vitro micronucleus test)	◎in vitro 陽 性時 陽性・矛盾・ 不明確な場合 は、追加の in vitro または in vivo (小 核、Comet、 TGR) が推奨 される。		EFSA Scientific Committee (2011) 「Scientific opinion on genotoxicity testing strategies applicable to food and feed safety assessment」
	Efsa 農薬・ 農薬代 謝物・ 残留農 薬	○ (農薬代謝 物)	◎原体	◎原体	◎農薬原体は in vitro で陰 性結果が得ら れた場合で も、in vivo 試験が常に必 要		Evaluation of the applicability of existing (Q)SAR models for predicting the genotoxicity of pesticides and similarity analysis related with genotoxicity of pesticides for facilitating of grouping and read across

別添 4

							Guidance on the establishment of the residue definition for dietary risk assessment (2016) (EFSA (2016))
	化粧品 規則 1223/2009	試験バッテリーなし	試験バッテリーなし	試験バッテリーなし	試験バッテリーなし		Regulation (ec) no 1223/2009 of the european parliament and of the council of 30 november 2009 on cosmetic products (recast)
	化粧品 SCCNFP	規定されていない	◎	◎又はマウスリンフォーマ試験	◎in vitro 陽性時		Recommended mutagenicity / genotoxicity tests for the safety testing of cosmetic ingredients to be included in the annexes to council directive 76/768/eec (SCCNFP notes of guidance)

別添 4

	化粧品 SCCP	規定されてい ない	○ 試験バッテリ ーなし	○ 試験バッテリ ーなし	◎in vitro 陽 性時	陽性の in vitro 結果が in vivo で何らかの関連 性を持つかどうかを判断 するために、動物を用い た追跡試験が不可欠との 記載がある。	Scientific Committee on Consumer Products SCCP Position statement on genotoxicity / mutagenicity testing of cosmetic ingredients without animal experiments
	化粧品 SCCS	○	○	○ (推奨される のは in vitro 小核試験)			The sccs notes of guidance for the testing of cosmetic ingredients and their safety evaluation 12th revision
	◎必須 ○任意 △限定 的な利用						

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
本間正充	レギュラトリーサイエンスの目的と定義	レギュラトリーサイエンス研究会	実例から学ぶレギュラトリーサイエンス	じほう	東京都	2025	2-3
本間正充	医薬品中の変異原性不純物の評価と管理	レギュラトリーサイエンス研究会	実例から学ぶレギュラトリーサイエンス	じほう	東京都	2025	67-72
本間正充	ICH-M7(R2)、及びQ&Aの解説とR3の動向	橋本清弘	ICH M7(R2)・EMA・FDAガイダンスをふまえたニトロソアミン類の分析法／許容摂取量とリスク管理・評価	サイエンス&テクノロジー	東京都	2025	3-23

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
Masamitsu Honma	Guidelines for the Assessment and Control of Mutagenic Impurities in Pharmaceuticals.	<i>Genes and Environment</i>	47	26 (article number)	2025

Kei-ichi Sugiyama, Ayako Furuhashi, Katsuyoshi Horibata, Masataka Tsuda, Kazuki Izawa, Genichiro Tsuji, Yosuke Demizu, Kohei Matsushita, Takashi Toyoda, Yoko Hirabayashi, Yoshihiro Saito, Masamitsu Honma	Assessment of mutagenic potential of puberulic acid contaminated in red yeast rice (beni-koji) health food supplements.	<i>Mutagenesis</i>	41	110–118	2026
Martus HJ, Beevers C, Dertinger S, Froetschl R, Godschalk R, Gollapudi B, Hashimoto K, Kirkland D, Liberti S, McGovern T, Sugiyama KI, White P, Zeller A.	Summary of Major Conclusions From the 8th International Workshop on Genotoxicity Testing (IWGT), Ottawa, Canada.	<i>Environ Mol Mutagen.</i>	2	3-16	2025

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 国立医薬品食品衛生研究所
所属研究機関長 職 名 所長
氏 名 齋藤 嘉朗

次の職員の令和7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 Ames/QSAR の化審法新規審査への実装に関する研究
3. 研究者名 （所属部署・職名） 安全性生物試験研究センター ゲノム安全科学部 ・ 部長
（氏名・フリガナ） 杉山 圭一 ・ スギヤマケイイチ

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）	☐	☒	☐		☐
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	☐	☒	☐		☐
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	☐	☒	☐		☐
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：）	☐	☒	☐		☐

（※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 ☒ 未受講 ☐
-------------	---

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 ☒ 無 ☐ （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 ☒ 無 ☐ （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 ☒ 無 ☐ （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 ☐ 無 ☒ （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 国立医薬品食品衛生研究所

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 齋藤 嘉朗

次の職員の令和7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 Ames/QSAR の化審法新規審査への実装に関する研究
3. 研究者名 （所属部署・職名） 安全性生物試験研究センター ゲノム安全科学部・客員研究員
（氏名・フリガナ） 本間正充・ホンママサミツ

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）	☐	☒	☐		☐
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	☐	☒	☐		☐
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	☐	☒	☐		☐
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： ）	☐	☒	☐		☐

（※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 ☒ 未受講 ☐
-------------	---

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 ☒ 無 ☐ （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 ☒ 無 ☐ （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 ☒ 無 ☐ （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 ☐ 無 ☒ （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 国立医薬品食品衛生研究所

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 齋藤 嘉朗

次の職員の令和7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 Ames/QSAR の化審法新規審査への実装に関する研究
3. 研究者名 （所属部署・職名） 安全性生物試験研究センター ゲノム安全科学部・研究助手
（氏名・フリガナ） 三島雅之・ミシママサユキ

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）	☐	☒	☐		☐
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	☐	☒	☐		☐
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	☐	☒	☐		☐
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： ）	☐	☒	☐		☐

（※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 ☒ 未受講 ☐
-------------	---

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 ☒ 無 ☐ （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 ☒ 無 ☐ （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 ☒ 無 ☐ （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 ☐ 無 ☒ （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。