

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情報を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番号がない重合物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, Umano 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。）