

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）
総括研究報告書

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収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由の等価用量（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 $\text{ArNH}_2 \rightarrow (\text{S}_9) \rightarrow \text{Ar-NHOH} \rightarrow \text{Ar-NH}^+$ （ニトレニウムイオン） $\rightarrow \text{Ar-NH-DNA}$ （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ンル基は非変異原性（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、ニトレニ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、 $\text{ddE} > -5 \text{ kcal/mol}$ 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、HES (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1/2～2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1/4～4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結合力) 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良好に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利用される *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ーリングの結果から、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 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. Furuhashi 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, Furuhashi 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 Translational 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- 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)
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, Kusuha 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. 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