

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

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、化審法における既存化学物質のAmes変異原性情報とAmes/QSAR予測の比較を行った。用いた4つのQSARモデルはいずれも高い正確度を示したが、モデルに既知見として含まれていない陽性物質に対する感度は低い可能性が示唆された。「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Ames変異原性予測手法における芳香族ニトロの影響について考察した。同時に、外部評価を実施し、既存QSARモデルと比較検討からコンセンサスモデルにおいてバランスの良い結果が得られることを示した。「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、化学言語モデルを対象に文献調査と解析を行い、Canonical SMILESの表記揺れがタスク依存的に性能へ影響し、性質予測では表記とラベルの交絡により見かけ上の性能が生じ得ることを明らかにした。「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、事例研究によってNAMの概念実証を行うため、R6年度に調査した事例研究の候補化合物と適切なシナリオを基に、R7年度は化学物質群についてさらに情報を収集して追加のレビューを行い、事例研究のシナリオの調査を行った。また関連するNAMの調査を進め、R8年度の事例研究に向けた準備を進めた。「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、GHS急性毒性区分1と2および区分外の化学物質を対象に、急性致死の作用機序を対象とする *in vitro* アッセイのAC₅₀値から *in vitro* - *in vivo* 外挿により導出した経口等価用量に基づいて毒性区分に分類し、*in vivo* 試験に基づくGHS毒性区分と比較することにより急性毒性影響へのIVIVEアプローチ適用の可能性を評価した。また、検討に使用および検討で得られた各種データのデータベース化も行い急性毒性の低い物質の特徴を整理した。「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）に関する *in silico* 予測モデルを活用し、反復投与毒性に関する種差との関連を確認するためクラスタリングを実施した。一部のクラスターではCYPの情報から種差の影響を推測できる可能性が示唆された。

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 毒性部・部長
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 名古屋市立大学大学院 データサイエンス研究科・准教授

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。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。)における既存化学物質の情報を用いてAmes/QSARを実施し、QSAR予測結果とAmes試験情報との一致率等から適用範囲を検討し、Ames/QSARの利用場面を提案する。R7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A

mes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った。国立医薬品食品衛生研究所安全性予測評価部が2015年から2024年までに評価した既存化学物質のうち、高分子化合物、無機化合物、構造未特定化合物等を除いた481物質を本研究の対象としてAmes/QSARを実施した。2種類のQSARソフト (Lhasa社のNexus 2.9.1およびMultiCASE社のCASE Ultra 1.9.2.7) を用いた。Nexusにおいては、Derek Nexus 6.5.1 (知識ベース) とSarah Nexus 5.1.0 (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。単独モデル及び2つのモデルを組み合わせた場合の予測性能を比較した。さらに、CASE Ultraを用いて、モデルに「既知の陽性/陰性」として含まれていないAmes陽性物質に対する検出感度を検討した。

「Ames/QSARデータの深化と評価に関する研究」については、化学反応に基づく量子化学計算を用いた芳香族アミンのAmes変異原性予測モデルの性能を高め、部分構造の影響を検討する目的で、R7年度に改めて学習セット用の芳香族アミンの情報をQSAR Toolbox 4.7.1を用いて収集した。ここで芳香族アミンを選択する基準として、芳香族環にひとつだけアミノ基が結合する分子量500の物質を選択し、さらにAmes試験がOECD TG471準拠の菌株での結果に限定した。また、複素環、カチオン、2つ以上のアミノ基を持つ構造は除いた。この学習セットで、統合計算化学システムMOEを用い、評価指標となる相対エネルギーddEを量子化学計算で算出し、モデルを構築した。テストセットとして、既存の論文 (Genes Environ. **46** 24, 2024) において、学習セットに含まれていない分子量500以下の芳香族アミンの情報を整理し評価に用いた。更に、既存のQSARモデルと比較を行う為、テストセットを用いて統計ベースモデル (MultiCASE社のCASE Ultra 1.9.2.1のAmes変異原性予測モデルGT1_BMUT 1.9.2.0) と知識ベースモデル (Lhasa社のNexus 2.8.0のDerek Nexus 6.4.2) のAmes/QSAR予測を実施した。

「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、化合物構造を文字列として扱う化学言語モデルに着目し、QSARモデルにおける入力表現の設計が性能や解釈に与える影響を検討した。近年、言語AIの進展により、化学言語モデルは分子生成や性質予測など多様なタスクに応用されているが、入力となるSMILES表記の扱いについては十分に整理

されていない。そこでまず、関連する131報の論文を対象に文献調査を行い、Canonical SMILESの前処理や正規化手順の記載状況を体系的に整理した。さらに、SMILESの表記揺れを意図的に導入・是正した複数の条件を設定し、分子生成タスクおよび毒性予測などの性質予測タスクにおいて、モデル性能と潜在表現の変化を比較解析した。

「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、TK（トキシコキネティクス）パラメータ及び代謝物の観点から、いずれが低毒性に寄与するかを検討した。生殖発生毒性に対しては、データベースとAOPに基づくアプローチにより、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、重篤な毒性影響が懸念される物質を探索した。ここで得られた10クラスター群のうち、物質数が十分あり、新規性のある芳香族ニトロ化合物について、既存の毒性データ、関連する物化性状データを幅広く収集し、それらを含めたレビューを行った。反応性の傾向を検討し、機序の特定を進めた他、共通の活性閾値またはサブカテゴリー特定による事例研究の試行を行った。関連する機序データを特定し、適したNAMの調査を行った。

「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、R7年度は、化学品の分類および調和に関する世界調和システム（GHS）の急性毒性区分が1と2に分類される化学物質および区分外に分類される化学物質を対象に、急性致死に関する37の作用機序を対象とする *in vitro* アッセイ、PBKラットモデルで使用する物質に固有のパラメータおよび *in vivo* の急性毒性に基づくGHS急性毒性区分に関するデータ等を収集しデータベース化した。PBKラットモデルを用いて *in vitro* - *in vivo* 外挿（IVIVE）換算係数を算出し、次に、各物質の *in vitro* アッセイの AC_{50} 値に変換係数を乗

じて経口経由の等価用量（OED）を導出した。そして、各物質の毒性区分を最小のOEDに基づいて分類した。OEDに基づく毒性区分を対応する *in vivo* 試験に基づくGHS急性毒性区分と比べることにより、急性毒性影響へのIVIVEアプローチの適用の可能性を評価した。また、急性毒性の低い物質について、構造とADMEの特徴を整理した。

「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、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する。R7年度は、薬物代謝酵素であるシトクロムP450（CYP）に関する *in silico* 予測モデルを活用し、反復投与毒性に関する種差との関連を確認するためクラスタリングを実施した。反復投与毒性として肝毒性を対象に、ラットとヒトの公開情報を整理した。ラットの肝毒性情報はAI-SHIPS ToxDB（<https://riss.aist.go.jp/results-and-dissemin/2798/>）を使用した。ヒトの肝毒性情報はDILIrank（Drug Discov Today. 21(4) 648-653 (2016)）を使用した。ラットとヒトの肝毒性情報を有する化学物質を用いて、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（Ambe et al., Chem. Res. Toxicol. 37(11) 1843-1850 (2024)）の予測確率から教師無し学習であるクラスタリングを実施した。また、種差の違いに関する情報を効率的に提供できる *in silico* アプローチのケーススタディに向けた対象物質を拡大するため、ヒトの肝毒性に関する公開情報の追加や肝毒性予測モデルのデータセット準備や前処理を実施した。

（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、対象とした既存化学物質481物質のAmes試験に基づく評価結果は、436物質（91%）が陰性、1物質が疑陽性（equivocal）、40物質（8%）が陽性、4物質（1%）が強い陽性であった。2種のQSARソフト（NexusおよびCASE Ultra）を用いて予測した結果、単独モデル（Derek（知識ベース）、Sarah（統計ベース）、GT_EXPERT（知識ベース）、GT1_BMUT（統計ベース））の4モデルにおける正確度（accuracy）はいずれも0.

9以上であった。また、2つのモデルを組み合わせた場合の正確度は単独モデルの場合とほぼ同等であった。さらに、CASE Ultraについて、Out of domainおよび既知見情報を意味するKnown Positive又はKnown negativeと判定された物質を除いて集計した結果、モデルに「既知の陽性/陰性」として含まれていない陽性物質に対する感度は低い結果が得られた (0/1)。

「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変異原性評価において、DNA adductを形成する反応： $\text{ArNH}_2 \rightarrow (\text{S}_9) \rightarrow \text{Ar-NHOH} \rightarrow \text{Ar-NH}^+$ (ニトレニウムイオン) $\rightarrow \text{Ar-NH-DNA}$ (付加物)に着目している。この反応の前半部分に注目し、アニリン(PhNH_2)との相対エネルギー値 $\text{ddE} = \Delta E_{\text{ArNH}^+} + \Delta E_{\text{PhNH}_2} - \Delta E_{\text{ArNH}_2} - \Delta E_{\text{PhNH}^+}$ を量子化学計算で求めた。今回用いた学習セットでバイナリモデルを構築した結果、閾値は-6.6 kcal/molとなり、これより上だと陰性、下だと陽性の予測であった。ここで、芳香族ニトロ基(以下、 cNO_2)の部分構造を持つ芳香族アミンに着目すると、その85%でAmes試験陽性になるにも関わらず、ddEが高い値(おおよそ20~60 kcal/mol)になる芳香族アミンが多数存在し、偽陰性になる傾向であった。そこで、 cNO_2 の有無を考慮に入れたモデルを評価した所、閾値は-6.58 kcal/molとなり、特異度は減少するが、感度や精度が上昇した。なお、既存のQSARモデル(GT1_BMUT、Derek Nexus)はddEモデルよりも感度等は高いが、特異度が低い傾向(つまり、ddEモデルで真陰性の割合が高い傾向)が見られた。更にddEと cNO_2 の有無を加味したモデル、GT1_BMUT、Derek Nexusうち、2モデル以上で陽性を予測した場合は陽性、2モデル以上で陰性を予測したものを陰性としたコンセンサスモデルを構築した。コンセンサスモデルでは、ddEと cNO_2 の有無を加味したモデルよりも(真陰性が減ることから)特異度は劣るが全般的にパフォーマンスが向上した。更にコンセンサスモデルでは、ddEと cNO_2 の有無を加味したモデルをddEのみ加味したモデルに置き換えてもパフォーマンスの差はみられなかった。

「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。まず文献調査の結果、約半数の研究がCanonical SMILESの生成方法や前処理について明確に記載しておらず、再現性や解釈可能性の観点で課題があることが明らかとなった。実験の評価では、SMILESの表記揺れが化学言語モデルに与える影響はタスク依存的であ

ることが示された。分子生成など、入力文字列を適切な文字列として再構成するタスクでは、表記揺れを是正することで性能が顕著に向上した。一方、毒性予測などの性質予測タスクでは、表記揺れの影響がほとんど見られない場合と、逆に精度が低下する場合が存在し、タスク間で異なる挙動が観察された。

「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。Pub Chem、HESS (ver. 3.3)等に登録されているADME情報を検索し、化学構造と関連付けて低毒性に対する考察を行ったところ、

(1) 長鎖状脂肪族アルコール類は吸収されにくい。

(2) ベンゼンまたは(3) ナフタレンスルホン酸類は吸収されにくい、もしくは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。

(4) 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た後に代謝を受けて尿中に速やかに排泄される。

という可能性が示唆された。これらのグループからOECD等で既にADMEの検討事例のある(1, 3)を除いた2グループ(2, 4)について、更に検討を行った。

(2) ベンゼンスルホン酸類のTKパラメータをADME T predictor (ver. 12)で取得した結果、スルホ基を有しないベンゼン類よりも明らかにlog P, P_{eff} , V_d が低くなった。スルホ基によって、極性が増すことや硫酸抱合体と似た構造であるため、消化管膜の透過性が低く、透過しても組織への分布が低いと考えられた。また、(4) 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について、OECD QSAR Toolbox (ver. 4.7)で取得した代謝物の情報から、モノエチレングリコールアルキルエーテル類に比べて、毒性を示すアルコキシ酢酸が代謝物として生じにくいあるいは生じないことから、鎖長が伸びることにより毒性が低下することが示唆された。

生殖発生毒性に対しては、R6年度に抽出した10クラスターのうち、物質数が十分あり、新規性のある芳香族ニトロ化合物クラスターを対象に、既存の毒性データ、関連する物化性状データをさらに広く収集したところ、芳香族ジニトロ化合物および芳香族トリニトロ化合物は、単一のニトロ基を持つ芳香族化合物より概して毒性が強い傾向が明らかとなり、リ

ードアクロスのサブカテゴリー作成に有用な知見が得られた。グルタチオン枯渇および毒性に至る機序を特定するため、反応性について調査を行った結果、ニトロ基の還元と活性酸素生成の関連性が示唆された。また、グルタチオンとの直接反応や、グルタチオン-S-トランスフェラーゼ阻害活性があることも確認された。これらを基にサブカテゴリーの検討を含む、事例研究の試行を行った。グルタチオン枯渇AOPに関連する機序データを特定し、適したNAMの調査を行い、R8年度に実施する事例研究の準備を進めた。

「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、GHSの急性毒性区分1と2の76物質および急性毒性区分外の179物質の計255物質について各種データをデータベース化した。Active callのある*in vitro*アッセイとPBKラットモデルで使用するパラメータ値が整備でき、OEDが導出可能であったGHS急性毒性区分1と2の物質は43物質、同様に区分外の物質は112物質であった。使用したPBKラットモデルの予測誤差を考慮して、OEDが導出できたGHS急性毒性区分1と2の43物質中の20物質についてほぼ妥当に分類できたと判断した。また同様に、区分外の112物質中の53物質についてもほぼ妥当に分類できたと判断した。しかし、GHS区分1と2の16物質がOEDに基づき区分4または区分外に分類され、GHS区分外の35物質がOEDに基づき区分1または2に分類されたことから、急性致死に関与する作用機序を対象とする*in vitro*アッセイの最小のAC₅₀値からIVIVEアプローチで急性毒性を適切に評価することは、現時点では難しいと判断された。一方、急性毒性の低い物質の特徴としては、3つのタイプ (組織に分布しやすい物質、吸収されるが排泄も早い物質、代謝されやすい物質) が確認された。

「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。肝毒性に関するラット (AI-SHIPS ToxDB) とヒト (DILIrank) の公開情報から、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、4つのクラスターが生成され、ラットとヒトの肝毒性に種差が生じる可能性があるクラスターと種差を生じる可能性が低いクラス

ターが確認された。本システムは化学物質のSMILESが入手できれば、CYP分子種の阻害活性の有無を判別する*in silico*予測モデルから算出される予測確率を用いてクラスターに分類し、肝毒性に関する種差情報の支援が可能となる。また、システムのケーススタディに向けて対象物質を拡大するため、2025年9月に更新されたDILIrank 2.0 (<https://www.fda.gov/science-research/liver-toxicity-knowledge-base-ltkb/drug-induced-liver-injury-rank-dilirank-20-dataset>) を用いると最大300物質のヒト肝毒性情報が追加できることが確認された。一方で、化学物質の構造情報を画像化した深層学習モデルによるヒト肝毒性予測モデルを独自に構築するためのデータセットをDILIrankと分子記述子情報を用いて作成した。

D. 考察

「Ames/QSARの活用に関する研究」については、Ames試験データを有する既存化学物質481種のうち、436物質 (91%) が陰性、1物質が疑陽性 (equivocal)、40物質 (8%) が陽性、4物質 (1%) が強い陽性であり、陰性物質に大きく偏っていた。この結果はR6年度の試行結果と同様であった。先行研究のAmes/QSAR国際チャレンジプロジェクトでも同様の特徴が見られており、一般化学物質の約1割がAmes陽性物質であることが確認された。4つのQSARモデルについて、単独モデルを用いた予測では、正確度がいずれも0.9以上であった。この高い数値は陰性物質へのデータの偏りを反映していると考えられる。2つのモデルを組み合わせた場合の正確度は、単一モデルとほぼ同等であった。知識ベースと統計ベースの組み合わせによる予測性能の向上は、今回の条件では明らかでなかった。多数の既存化学物質の既知の試験結果がQSARモデルの学習に組み込まれていることが、2モデル組み合わせでも単一モデルと比較してスコアが改善しなかった原因と考えられる。一方で、モデルに既知陽性/陰性として含まれていない物質に対する陽性検出感度は低い可能性が考えられた。これは新規化学物質や構造が大きく異なる物質に対する予測の限界を示唆している可能性がある。各予測値と参照データとの差異については、さらに詳細な分析が必要である。

「Ames/QSARデータの深化と評価に関する研究」では、ddEと既存QSARを用いたコンセンサスモデルでは、特異度と陽性的中率を除いてddEにcNO₂の有無を考慮に入れたモデルよりもパフォーマンスが改

善する傾向であり、全体のバランスが取れた結果となった。コンセンサスモデルでは、ddEにcNO₂の有無を考慮に入れたモデルとddEのみのモデルで性能差がみられなかった。これは、統計ベースと知識ベースQSARモデルで芳香族ニトロの様なアラート構造や活性を減少させる方向に働く部分構造の有無など経験的に既知の情報は取り込まれているためだと説明できる。ddEモデルでは、複数の官能基が寄与した電子的な影響を加味してアミノ基がニトレンウムイオンを形成する際の安定性でAmes変異原性を予測する手法である。この手法は分子量が大きかったり、立体障害をもたらす構造の影響等を加味できないなど制限はある (Genes Environ. **46**, 2024, Genes Environ. **44**, 10, 2022) もののルール化することが難しい複数の官能基の影響を取り込むことが可能であり、テストセットで真陰性が多い傾向にあり、既存QSARモデルと相補的になりうる。

「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、潜在表現の詳細な解析から、化学言語モデルは表記揺れそのものを内部表現としては識別していることが確認された。それにもかかわらず性能差が現れない性質予測タスクでは、学習過程において表記揺れに依存しない共通の重要特徴量が選択され、下流の特徴量選択によって表記差に由来する情報が実質的にマスクされていると考えられた。一方、精度が低下したタスクでは、ケクレ表記と芳香族表記といった特定のSMILES表記とラベルが交絡しており、化学的性質を学習するよりも、文字列表現を識別する方が容易な状況が生じていた。この結果、モデルが本来の化学的意味ではなく、表記上の偏りを利用する「タスクハック」を起こしている可能性が示唆された。

「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、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課題であった。本研究ではツールを用いてTKパラメータを予測したが、これらのパラメータは推計値であるため、ツールの適用範囲と信頼性を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のみならず、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。今回、ニトロ基の数という構造情報と活性酸素生成の関連が確認でき、これを含め機序や毒性関連情報の収集とレビュー、関連するNAMの調査により、R8年度の事例研究に向けた準備を進めることができた。

「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、全対象物質において、*in vitro*アッセイが評価対象の全ての機序に対して実施されている物質はないため、OEDに基づいて毒性区分4または区分外に分類された、あるいはActive callがないGHS毒性区分1と2の物質では、適正な分類を行うのに不可欠な*in vitro*アッセイが未実施の可能性もある。また、*in vitro*アッセイでは、*in vivo*での代謝活性化に伴う毒性発現の適正な評価が困難なことも一因と考えられる。逆に、OEDに基づいて毒性区分1や2に分類されたGHS毒性区分外の物質についても様々な要因が考えられる。例えば、*in vivo*での速い代謝が報告されているbisphenol Aやdiisopropanolamineについては、CTCDデータベースから取得のCL_{int}値 0 μL/min/10⁶ hepacytesを用いたことが、IVIVE換算係数を過小に算出する要因と考えられる。さらに、chlorothalonilやbutanoic acidでは、消化管内での代謝、butyl glycidyl etherでは、加水分解酵素による代謝が消失に大きな寄与をすると報告されているが、汎用的なPBKラットモデルは、これらの代謝を考慮しないため、IVIVE換算係数を過小に算出していると考えられる。これらの代謝プロセスに対するモデルパラメータ値は*in vitro*測定や*in silico*推定で整備できる状況にはないため、これらのプロセスの汎用PBKモデルへの組み込みは、現時点では不可能である。急性毒性の低い物質の構造やADMEの特徴を整理した結果、3つのタイプ(吸収されにくい物質、吸収されるが排泄も早い物質、代謝されやすい物質)が確認されたが、毒性が強い物質についても同様に解析する必要があると考えられた。

「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、化学物質のSMILESが入手できれば、CYP分子種の阻害活性の有無を判別する*in silico*予測モデルから

算出される予測確率を用いてクラスターに分類することで、肝毒性に関する種差情報を提供できるシステムの基盤が構築できた。一方で、本システムのケーススタディに向けては対象物質の不足という課題も確認された。ラットとヒトの全身毒性情報について十分な情報が得られない場合は、それぞれの予測モデルを用いて種差に関する傾向を確認する対策も必要だと考えられる。

E. 結論

「Ames/QSARの活用に関する研究」については、化審法における既存化学物質のAmes変異原性情報とAmes/QSAR予測の比較を行った。用いた4つのQSARモデルはいずれも高い正確度を示した。データが陰性物質に大きく偏っていること、各モデルが既存化学物質の既知見情報を学習済みであることが予測性に影響したと考えられた。一方で、モデルに既知の陽性として含まれていない陽性物質に対する検出感度は低い可能性が示唆された。今後は正しく予測されなかった物質について分析し予測の信頼性を検討する。

「Ames/QSARデータの深化と評価に関する研究」については、芳香族アミンのニトレニウムイオンの安定性を評価する相対エネルギー ΔE を指標としたAmes変異原性予測モデルのパフォーマンスを評価し、既存のQSARモデルと組み合わせることで感度・特異度のバランスがとれた結果が得られることを示した。 ΔE に cNO_2 などの部分構造の有無を含めたモデルについては ΔE 単独で用いるときには重要な要素であるが、既存のQSARモデル(統計ベースモデル・知識ベースモデル)と組み合わせたコンセンサスモデルでは ΔE 単独のモデルで十分なパフォーマンスが得られることを明らかにした。芳香族アミンの予測手法としては「統計ベースモデル+知識ベースモデル+ ΔE の指標(部分構造の加味なし)」が有効であることを示した。

「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、Canonical SMILESの表記揺れは化学言語モデルにおいて無視できない要因であり、その影響はタスクの性質によって大きく異なることが明らかとなった。特に分子生成タスクでは表記の統一が性能向上に直結する一方、性質予測タスクでは、表記揺れが特徴量選択によって隠蔽される場合や、ラベルとの交絡により見かけ上の性能が生じる場合があることが示された。これらの結果は、QSARモデルの性能評価や解釈において、入力表現の前処

理を明示的に管理・報告する重要性を示しており、化学言語モデルの信頼性と再現性を確保するための基盤的知見を提供する。

「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、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年度は毒性データベースや既存ADMEおよびAOP情報等に基づいて、事例研究の候補化合物の検索と適切なシナリオを調査した。R7年度はR6年度の検討で得られたシナリオや化学物質群についてさらに情報を収集、データを取得し、追加のレビューを行い、事例研究の試行を行った。また関連するNAMの調査を進め、R8年度の事例研究に向けた準備を進めることができた。

「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、GHS急性毒性が区分1と2の物質および区分外の物質を対象に、*in vitro*アッセイの AC_{50} 値をOEDに外挿し、OEDに基づいて分類された急性毒性区分を、*in vivo*試験に基づくGHS急性毒性区分と比べることで、IVIVEアプローチの有害性評価への適用可能性を評価した。その結果、*in vitro*アッセイ系では、*in vivo*で代謝活性化される物質の有害性を適切に捉えきれない可能性があること、より信頼できる*in vitro* CL_{int} 値が必要な物質があること、汎用のPBKモデルには組み込まれない体内消失プロセスがOED導出に大きく関与する物質があることが明らかになった。今年度の検討で*in vitro*アッセイデータから外挿したOEDに基づいて分類された毒性区分とGHS毒性区分が一致しなかった物質について毒性発現機序や体内動態等の既存情報を収集、整理し、不正確なIVIVE結果を導く要因を明確にすることが、動物試験に代替してIVIVEアプローチを有害性評価、リスク評価の中で今後活用いく上で必要と考えられる。急性毒性物質の予測に資するデータベースの拡充については、急性毒性の高い物質についても同様に構造とADMEの特徴について解析を行う必要がある。

「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、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。また、*in silico*アプローチのケーススタディに向け、ラットとヒトの肝毒性情報を有する物質が不足していることがわかった。今後は対象物質を拡大するために、ヒト肝毒性予測モデル

の活用を検討する。

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. Murata Y, Akagi J, Doi Y, Iso T, Umano T, Masumura K, Matsumoto M, Toyoda T, Ogawa K: Evaluation of 13-week repeated-dose oral toxicity of zirconium(IV) butoxide in Crl:CD (SD) rats. Regul Toxicol Pharmacol. 2026;164: 105968.
2. Wada NA, Takeiri A, Motoyama S, Matsuzaki K, Tanaka K, Matsuo S, Fujii-Takeiri E, Tateishi H, Matsumoto K, Niimi N, Sassa A, Grúz P, Masumura K, Mishima M, Jishage KI, Sugiyama KI, Nohmi T: Mitomycin C-induced DNA double-strand breaks are enhanced by catalytic inactivation of DNA polymerase κ in mice. Genes Environ. 2025;47(1):22.
3. Matsumura S, Hosoi S, Hirose T, Otsubo Y, Saito K, Miyazawa M, Kawade A, Hakura A, Kakiuchi D, Asakura S, Koyama N, Okada Y, Chikura S, Kimoto T, Masumura K, Suzuki T, Sugiyama KI. Whole genome mutagenicity evaluation using Hawk-Seq™ demonstrates high inter-laboratory reproducibility and concordance with the transgenic rodent gene mutation assay. Genes Environ. 2025;47:13.
4. Matsumoto M, Natsume M, Iso T, Umano T, Murata Y, Masumura K, Horibata K, Sugiyama KI: Increased mutagenicity in the liver of MutaMouse females following oral treatment with commercial-grade toluene diisocyanate. Genes Environ. 2025;47:12.
5. Iso T, Umano T, Sugiyama KI, Masumura K, Matsumoto M: Verification of health-based guidance values for carbendazim. Regul Toxicol Pharmacol. 2025;162:105839.
6. 中川翔太, 額田祐子, 齋藤和智, 久木友花, 関根秀一, 田村亜紀子, 小野敦, 栗形麻樹子, 廣田衛彦, 豊田明美, 畑尾正人, 高橋祐次, 足利太可雄, 山田隆志. 医薬部外品申請におけるN GRAの活用に向けた事例研究～リードアクロスによるp-アルキルフェノール類の反復投与毒性予測～. 日本香粧品学会誌, 2026, in press
7. 久木友花, 関根秀一, 田村亜紀子, 中川翔太, 額田祐子, 齋藤和智, 小野敦, 栗形麻樹子, 廣田衛彦, 豊田明美, 畑尾正人, 高橋祐次, 足利太可雄, 山田隆志. 医薬部外品申請におけるN GRA (Next Generation Risk Assessment) の活用に向けた事例研究 ～リードアクロスによる2-Isobutoxyethanol の発生毒性予測～. 日本香粧品学会誌, 2025, 49(4): 264-274.
8. 山田隆志, 丸山 (薦田) 多恵子, 古濱彩子. O ECD (Q)SAR評価フレームワーク (QAF) ガイダンス. 毒性学トピックス解説. 日本毒性学会ホームページ (2025) . <https://www.jsot.jp/communication/topics.html#word043>
9. Hayashi T, Kotaki A, Fukushima A, Kawamura T, Katsutani N, Yamada T, Hirose A. Estimation of intravenous TTC (TTCiv) for Extractables and Leachables (E&Ls) by applying a modifying factor based on blood concentration predicted using an open-source PBPK model. J. Toxicol. Sci. 2025; 50(9): 471-481.
10. 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(2): 57-68.
11. 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).
12. Yamazoe Y, Ambe K, Tohkin M, Yamada T, Masumura K. CYP1B1- and CYP1A1-Template systems and their application to metabolism and inhibition. Genes Environ. 48;1;2026.
13. Yoshida K, Umano T, Yamada T, Matsumoto M. A preliminary evaluation of the applicability of the in vitro to in vivo extrapolation approach to quantitative risk assessment. J Toxicol Sci. 2026;51(1):7-18.
14. Hirose N, Umano T, Takano M, Iso T, Wakayama M, Masumura K, Inoue K, Matsumoto M. Determining repeated dose toxicity and reproductive/developmental toxicity of cis-3-hexenyl salicylate and comparing salicylate-induced toxicity. Fundam. Toxicol. Sci. 2026;13(2): 59-75.
15. Wakayama M, Umano T, Iso T, Hirose N, Murata Y, Matsumoto M. Summary information of the human health hazard assessment of

- existing chemicals substances (XI) . Bull. Natl. Inst. Health Sci. 2025;143:34-40
16. 松本真理子、重田善之、広瀬望、村田康允、磯貴子、馬野高昭. 毒劇物指定のための有害性情報の収集・評価. Bull. Natl. Inst. Health Sci. 2025;143:41-48
 17. Koyama N, Furuhashi A, Kruhlak NL, Shinada NK, Izawa K. Potential for Computational Genotoxicity: A Report on Symposium 3 of the 53rd Annual Meeting of the Japanese Environmental Mutagen and Genome Society (JEMS), 2024. Genes Environ. 2026;48(1):8.
 18. Sugiyama K, Furuhashi A, Horibata K, Tsuda M, Izawa K, Tsuji G, Demizu Y, Matsushita K, Toyoda T, Hirabayashi Y, Saito Y, Honma M. Assessment of mutagenic potential of puberulic acid contaminated in red yeast rice (beni-koji) health food supplements. Mutagenesis. 2026;41(3): 110–118.
 19. Ambe K. Development of a Data-Driven Prediction Model of Adverse Drug Reactions Using Large-Scale Medical Information and Machine Learning. Biol Pharm Bull. 2026; 49(2): 213-219.
- ## 2. 学会発表
1. 増村健一, 安東朋子, 堀端克良, 石井雄二, 杉山圭一: マウスを用いたアクリルアミドの*in vivo* 変異原性と次世代に誘発される生殖細胞系列突然変異の解析. 第52回日本毒性学会学術年会(2025.07)
 2. 磯貴子, 馬野高昭, 村田康允, 広瀬望, 若山美智子, 杉山圭一, 増村健一, 松本真理子: カルベンダジムの小核形成の用量反応評価からの指標値の導出. 第52回日本毒性学会学術年会(2025.07)
 3. 城島光司, 山田隆志, 藤井真人, 増村健一: ラット肝毒性予測モデルの構築と予測根拠の可視化による解釈性の向上～化学物質安全性評価への機械学習の活用を目指して～. 第52回日本毒性学会学術年会(2025.07)
 4. Yamada T, Yamamoto S, Yoshida K, Matsumoto M, Masumura K: An open-source database for inhaled industrial chemicals in PBK modeling: Towards high-accuracy parameter prediction. The American Society for Cellular and Computational Toxicology (ASCCT) 14th Annual Meeting (2025.10)
 5. Jojima K, Yamada T, Fujii M, Masumura K: Evaluating pre-trained transformer models for toxicity prediction task: Effectiveness and performance for hepatotoxicity. CBI学会2025年大会 (2025.10)
 6. 増村健一, 城島光司, 川村智子, 藤井真人, 牛田和夫, 甲斐薫, 井上薫, 山田隆志: 化審法の既存化学物質情報を用いたAmesQSAR予測性の検討. 日本環境変異原ゲノム学会第54回大会(2025.11)
 7. 松本真理子, 磯貴子, 馬野高昭, 大道友香, 広瀬望, 若山美智子, 増村健一, 堀端克良, 杉山圭一: グリシジルメタクリレート経口投与による雄MutaMouse における*in vivo* 変異原性の検討. 日本環境変異原ゲノム学会第54回大会(2025.11)
 8. 古濱彩子:(Q)SARの基礎とQAFへのいざない. 日本環境変異原ゲノム学会・微生物 変異原性試験研究会 (JEMS/BMS研究会) 第73回定例会(2025.11)
 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 その2. 日本環境変異原ゲノム学会第54回大会 (2025.11)
 10. 水野忠快: NAMsに向けた化合物構造の潜在表現抽出の現状. 日本薬学会第146年会 (2026.3)
 11. 水野忠快: 観測から潜在へ: 毒性学に向けた生命科学データに内在するパターンの抽出. 第8回医薬品毒性機序研究会 (2025.12)
 12. 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表記揺れに起因する化学言語モデルの予測バイアスの検証; 第42回メディスナルケミストリーシンポジウム (2025.11)
 13. 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: The impact of SMILES notation inconsistencies on chemical language model property prediction; CBI学会2025 (2025.10)
 14. 水野忠快, Study on Pattern Recognition of Chemical Structures by Language AI; 第40回日本薬物動態学会 (2025.10)
 15. Tadahaya Mizuno, Representation Learning for Drug-oriented Life Science Data; The 33rd Annual Meeting of the Korean Society of Applied Pharmacology (2025.10)

16. Tadahaya Mizuno, Current Status of Understanding and Application of AI for Handling Chemical Structures; GRSR2025 (2025.09)
17. Tadahaya Mizuno, Shumpei Nemoto, Yasuhiro Yoshikai, Yosuke Kikuchi, Takuho Ri, Hiroyuki Kusuhara; Investigation of Chirality Recognition by Encoder-Decoder Chemical Language Models; EuroTox 2025 (2025.09)
18. 水野忠快, 潜在的言語構造に基づく生命科学データのパターン認識; 2025 年日本バイオインフォマティクス学会年会・第 12 回生命医薬情報学連合大会 (2025.09)
19. 水野忠快, 毒性学発展に向けた生命科学データのパターン認識研究, 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025.07)
20. 水野忠快, 言語モデルを基盤とした毒性研究の深化, 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025.07)
21. Tadahaya Mizuno, Shumpei Nemoto, Yasuhiro Yoshikai, Yosuke Kikuchi, Takuho Ri, Hiroyuki Kusuhara, How Chemical Language Models Learn: Architectural Insights into Molecular Structure and Chirality Recognition; QSAR2025 (2025.06)
22. 山田隆志, リスク評価における in silico 有害性予測手法: 現状と将来展望. 日本薬学会第 146 年会 (大阪, 2026.3.28)
23. 山田隆志, 安全性評価における New Approach Methodologies (NAMs)の進展と毒性病理学への期待. 第 42 回日本毒性病理学会学術集会 (名古屋, 2026. 1.22-23)
24. 五十嵐智女、横田理、相田麻子、西村拓也、北嶋聡、山田隆志, 卵巣摘出マウスの子宮肥大試験を用いた 12 化合物の内分泌かく乱作用のスクリーニング評価. 第 27 回日本内分泌攪乱物質学会研究発表会 (つくば, 2025.12.11-12)
25. 山田隆志, 食品関連化学物質のリスク評価におけるリードアクロス: 近年の動向とNAMsの活用に関する課題と展望. 日本動物実験代替法学会第38回大会 (横浜, 2025.11.2)
26. 村山航己, 佐藤花音, 松浦利絵子, 石川亜佐美, 中元颯馬, 平林容子, 中島芳浩, 大久保佑亮, 山田隆志, 福田淳二. ヒトiPS細胞を用いたシグナルかく乱指標による生殖毒性物質の評価. 日本動物実験代替法学会第38回大会 (横浜, 2025.11.1-3)
27. 佐藤花音, 村山航己, 松浦利絵子, 中元颯馬, 石川亜佐美, 平林容子, 中島芳浩, 大久保佑亮, 山田隆志, 福田淳二. ヒトiPS細胞を用いたシグナルかく乱に基づく新型コロナウイルス感染症治療薬の 発生毒性評価. 日本動物実験代替法学会第38回大会 (横浜, 2025.11.1-3)
28. 中元颯馬、村山航己、佐藤花音、松浦利絵子、石川亜佐美、平林容子、中島芳浩、福田淳二、大久保佑亮、山田隆志. ヒトiPS細胞を用いたPFASのシグナルかく乱作用を基にした発生毒性評価: PFAS への適用性と信頼性の検証. 日本動物実験代替法学会第38回大会 (横浜, 2025.11.1-3)
29. 山田隆志. リードアクロス: 現状、課題、将来への展望. 第52回日本毒性学会学術年会 (沖縄, 2025.7.4)
30. 山田隆志. ヒト健康影響に関連した化学物質有害性の予測と評価: (Q)SARとリードアクロスの動向について. 第71回富山県薬事研究会総会 (富山, 2025.6.25)
31. 安部賀央里 安全性評価におけるデータサイエンスの活用. ロボット・AI・ビッグデータ 創薬シンポジウム (2025.5)
32. Maebara K, Kinoshita K, Ondo K, Tochtani T, Usui T, Miyawaki I, Arakawa H, Ambe K. Development of a Predictive Model for Chemically Induced Rat Liver Cell Necrosis Using Visualized Transcriptome Data. CBI学会2025 (2025.10)
33. 松本真理子. シンポジウム「リスク評価におけるベンチマークドース法の最新動向と課題」(ベイズ論的アプローチを用いたベンチマークドース法のリスク評価適用への課題: 二値データの解析結果. 沖縄、第52回日本毒性学会学術年会、2025年7月4日
34. 水田保子、赤木純一、畝山瑞穂、赤根弘敏、六鹿元雄、磯貴子、松本真理子、小川久美子、豊田武士. ラットを用いた4-(ベンジルオキシ)フェノールの13週間反復経口投与毒性試験. 滋賀、日本食品化学学会第31回総会・学術大会、2025年6月5日
35. Akihiko Hirose, Asako Fukushima, Tae Hayashi, Takaaki Umano, Takehiko I. Hayashi, Mariko Matsumoto Comparison of the impact of Bayesian priors on BMDL calculations for continuous data dependent on toxicity endpoints EUROTOX 2025 (2025.9.16)
36. 小池遥己、小高和大、渋谷優空、関根 航、茅野朋子、松本真理子、藤岡正喜、鈴木周五、魏民、戸塚ゆ加里 有機フッ素化合物 (PFAS)

の遺伝毒性評価 第32回日本がん予防学会総会 (2025.9.13)

37. M. Matsumoto, K. Yoshida, T. Umano, T. Iso, Y. Omichi, N. Hirose, M. Wakayama, T. Yamada, and K. Masumura. Exploring the potential of in vitro to in vivo extrapolation for uterotrophic effects in quantitative human health risk assessment. SOT2025 (2026.3.23)
38. 大道友香、若山美智子、磯貴子、馬野高昭、広瀬望、松本真理子 安全性評価スキームを用いた水道用資機材原料であるプロピレングリコールモノメチルエーテルの毒性評価値の導出 (日本薬学会第146年会・大阪) (2026.3.27)

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