

経済産業省委託事業

令和6年度化学物質規制対策（毒性発現予測
システムの活用促進に向けた課題等の調査）
報告書

みずほリサーチ&テクノロジーズ

2025年3月14日

ともに挑む。ともに実る。



	提案要求事項	ページ
1.	背景・目的	2
1.1	背景	3
1.2	目的	6
1.3	実施内容	7
2.	システムの信頼性確保に向けた対応	8
2.1	QMRFの作成	9
2.2	JaCVAM資料編纂委員会等で用いる資料の作成及び説明・質疑応答等の対応	17
3.	将来の行政利用に向けた検討・対応	18
3.1	実施内容と方法	19
3.2	ケーススタディ対象化学物質の選定	20
3.3	予測結果と試験結果の比較・考察	24
3.4	将来の行政利用に向けた活用方法の提案	45
	付属資料	54

1. 背景・目的

■ 背景その1：AI-SHIPS開発経緯と事後評価における提言

- 化学物質の安全性の評価は、従来、反復投与毒性試験など動物実験により行われてきた。しかし、動物実験は高額のコストや時間がかかること、また動物福祉の観点から、化学物質の構造から毒性を予測するQSAR（定量的構造活性相関）などの代替手法の開発が進められてきた。
- 一方で、これらの手法は、毒性発現機序との関連性が明らかでない（ブラックボックス）といった課題があった。

毒性情報に加え毒性発現機序情報も提示可能な毒性発現予測システム（AI-SHIPS）を開発

（省エネ型電子デバイス材料の評価技術の開発事業（機能性材料の社会実装を支える高速・高効率な安全性評価技術の開発）（2017-2021））

終了時評価時の提言

- 開発事業の終了時評価（令和4年度）において、下記に関する提言がなされた（詳細は右参照）。
 - **継続的な管理・運用に向けたマネジメント体制の整備や国際展開**
 - **将来の行政利用に向けた取り組み**

【アウトカム達成に向けて】

本予測システムは利用者にとって理解・納得しやすいものであるため、「まず利用してもらう」ための情報発信／認知度向上に継続的に注力するなど、利用開始までのバリアをいかに低減できるかが課題である。また、既存化学物質や他分野の化学物質への応用を普及の視野にいれることが費用対効果の面からも望ましい。

【システムの継続的な運用】

化学物質情報の更なる拡張やモデルの高度化の取組のため継続的な活動が必要不可欠であり、国、アカデミア及び産業界がそれぞれ適切に役割を分担することにより、社会実装につなげていくことができる。そのため、第三者が継続的に利用できる体制の構築、システム管理・運営などの課題に戦略的・効率的に取り組む実施マネジメント体制を早急に整備するとともに、本システムの自立的運営に向けたエコシステム設計を行うべきである。

【国際展開等】

世界の化学物質を取り巻く環境に対応していくために国際連携を一層深める必要があるとともに、日本の産業競争力強化や行政利活用のために、本システムの国際標準化やOECDテストガイドライン化等の戦略を検討すべきである。

【行政利用への取組】

本予測システムの予測結果の法的受入れが強く望まれるが、化学産業界での本予測システムの利用拡大が法的受入れを後押しするものと思われる。一方で、現在示されている感度・特異度ともに行政利用に十分とはいえないことから、評価対象物の絞り込みなどを行い、確実に評価出来る条件設定を行うこと等が行政利活用への道筋となりうる。

1.1 背景

I 背景その2：QSARの行政受け入れに関するOECDの活動

- 2003年に経済協力開発機構(OECD)は、QSAR専門家グループが設立され、QSARの行政利用を推進することを目的とした活動を開始。化学物質管理規制等でQSARを利用する際は、利用するQSARが利用目的に適した性能を備えていることを事前に検証する必要がある。その検証の指標とすべき項目を5つの原則としてまとめ、2004年11月に加盟各国の合意を得て制定。その後、いくつかのガイダンスを作成している。
- 2008年にOECDは、カテゴリーアプローチに使用するデータや評価手法の国際共有化、国際整合化を目的として、カテゴリーアプローチによる評価を支援するためのシステム「[QSAR ツールボックス](#)」を開発し、無料で公開した。公開以降、QSAR ツールボックスは継続的にデータや機能が追加されており、インターフェースの高度化等も行われてきた。現在では、各国から提供された有害性試験データや、化学物質の特性のプロファイリング、代謝のシミュレーションなどの多くの機能を有している。
- AI-SHIPSの普及や行政受け入れを目指すにあたっては、[QSARツールボックスに搭載され、国際的な認知が図られることが有効なステップ](#)だと考えられる。また、QSARツールボックスを介して多くのユーザに使用してもらうなら中で、AI-SHIPSのさらなる改良・精度向上も期待される。
- OECDでは、in vitro試験やQSARやRead-acrossとin vivo試験をWeight of evidence で組み合わせる「試験と評価の統合的アプローチ (Integrated Approached to Testing and Assessment : IATA)」の考え方でAdverse Outcome Pathway; AOP に基づく評価方法に取り組んでいる。[機序が考慮された毒性推定システムのQSARツールボックスへの搭載は、国際的にも意義が高い](#)と言える。

背景その3：JaCVAM編纂委員会における検討経緯

- JaCVAM（日本動物実験代替法評価センター）は、動物実験に関する3Rs（削減、苦痛の軽減、置き換え）の促進に資する動物実験代替法を行政試験法として、可能な範囲での導入に貢献することを目的とし、試験法の有用性とその限界及び行政試験法としての妥当性についての評価を実施している。これまで、皮膚感作性や眼刺激性などのin vitro試験を中心に評価を実施してきた。
- JaCVAMの資料編纂委員会は、試験法に関するバリデーション報告書、第三者評価委員会の報告書及び当該試験法の背景情報を用い、必要に応じて当該試験法に対する意見・提案を国内外の機関に行うとともに、資料編纂委員会としての報告書をまとめる役割を負っている組織である。
- JaCVAMでは、2022年度に、AI-SHIPSを科学的、社会的および行政的な受け入れの視点で第三者評価することを目標に、資料編纂委員会の設立が承認され、2023年から活動を開始している（委員長：東京大学 楠原洋之氏）。
- 2023年度の第1回資料編纂委員会にて、AI-SHIPSの複雑なモデルを理解するためには、OECDが提供しているモデル報告様式（QSAR Prediction Reporting Format; QMRF）を通じた理解が有用との判断がされた。

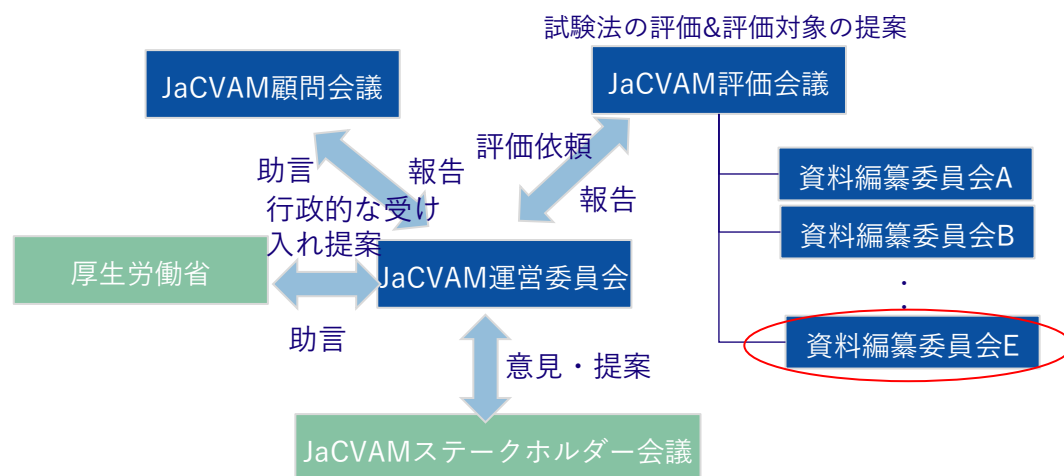


図 JaCVAM会議体制

年度	2023	2024	2025
資料編纂委員会	→		
評価会議		→	→
運営委員会			→

反復投与毒性(AI-SHIPS)の提案書の取り組み目標
（出典：JaCVAM 今後の活動計画）

1.2 目的

- 以上の背景から、本事業では、国際展開や将来の行政利用に向けた取り組みを加速するべく、AI-SHIPSシステムの信頼性を論理的に説明するための情報の整理等を行った。

■ 背景その1：AI-SHIPS開発経緯と事後評価における提言

継続的な管理・運用に向けたマネジメント体制の整備や国際展開将来の行政利用に向けた取り組みが必要

■ 背景その2：QSARの行政受け入れに関するOECDの活動

行政受け入れを目指すにあたってQSARツールボックスに搭載され、国際的な認知が図られることが有効

■ 背景その3：JaCVAM編纂委員会における検討経緯

AI-SHIPSを科学的、社会的および行政的な受け入れの視点で第三者評価することを目標にした活動開始



国際展開や将来の行政利用に向けた取り組みを加速するべく、本システムの信頼性を論理的に説明するための情報の整理等を行った

- 実施内容を以下に示す。

実施項目	
3. (1) システムの信頼性確保に向けた対応	
	AI-SHIPS の毒性予測方法や信頼性等に関する重要な情報を要約したQMRF (QSAR Model Reporting Format) を作成した。年度内に実施されたJaCVAM (日本動物実験代替法評価センター) 資料編纂委員会において用いる資料の作成及び説明・質疑応答等の対応を行った。
3. (2) 将来の行政利用に向けた検討・対応	
	化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律 (化審法) における反復投与毒性試験の結果が公表されている化学物質や親物質の分解生成物である化学物質等について、10件程度の事例を抽出し、本システムを用いた予測結果と反復投与毒性試験結果を比較した。比較結果から、毒性の有無が正確に予測できる範囲の化学構造を整理する等、将来の行政利用に向けた活用方法を提案した。
3. (3) その他	
	(1) (2) に付随して、必要に応じて関連する資料作成のほか問い合わせ対応等を行った。

2. システムの信頼性確保に向けた対応

I QMRF

- OECD QSAR Working Groupでは、「有効なQSARモデルによって生成された予測が、規制目的に受け入れられていると限らない」という問題意識から、2021年から規制当局が利用するための評価の枠組みの議論を開始し、2023年には、QSARを活用して得たデータの受け入れ可否を行政機関が判断するにあたっての方法や考え方を検討し、行政受け入れのための評価ガイダンス((Q)SAR Assessment Framework: Guidance for the regulatory assessment of (Quantitative) Structure Activity Relationship models, predictions and results based on multiple predictions) を公開した。
- QMRFは予測モデル毎に作成される予測モデルの説明書であり、OECD (Q) SARモデル5原則*に従った項目立てになっている。
- なお、このフレームワークによると、評価者はモデル開発者が作成したQMRFに基づき、OECD (Q) SARモデル5原則*に従ってモデルの受容性を評価する。さらに、ユーザが作成したQPRF(QSAR Prediction Report Format)に基づき、規制目的における(Q)SAR予測と結果の評価に関する4原則に従って予測と結果の受容性を評価をする。
- 当該文書の付属として、QMRFの様式(v2.1)や、QPRFの様式(v2.0)ならびにそれぞれの評価のためのチェックリストがついている。

* SARモデル5原則

QSARモデルを規制に利用することを目的した際に、モデルが満たすべき以下の5つの原則。

- (1) エンドポイントの定義
- (2) 曖昧ではないアルゴリズムの定義
- (3) 適用範囲の定義
- (4) 適合性、頑健性、予測性の適切な評価
- (5) 可能ならば、メカニズムに関する解

図：QMRF 目次

(7章以降は、節を省略)

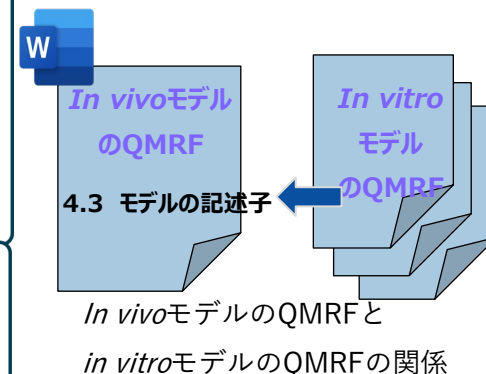
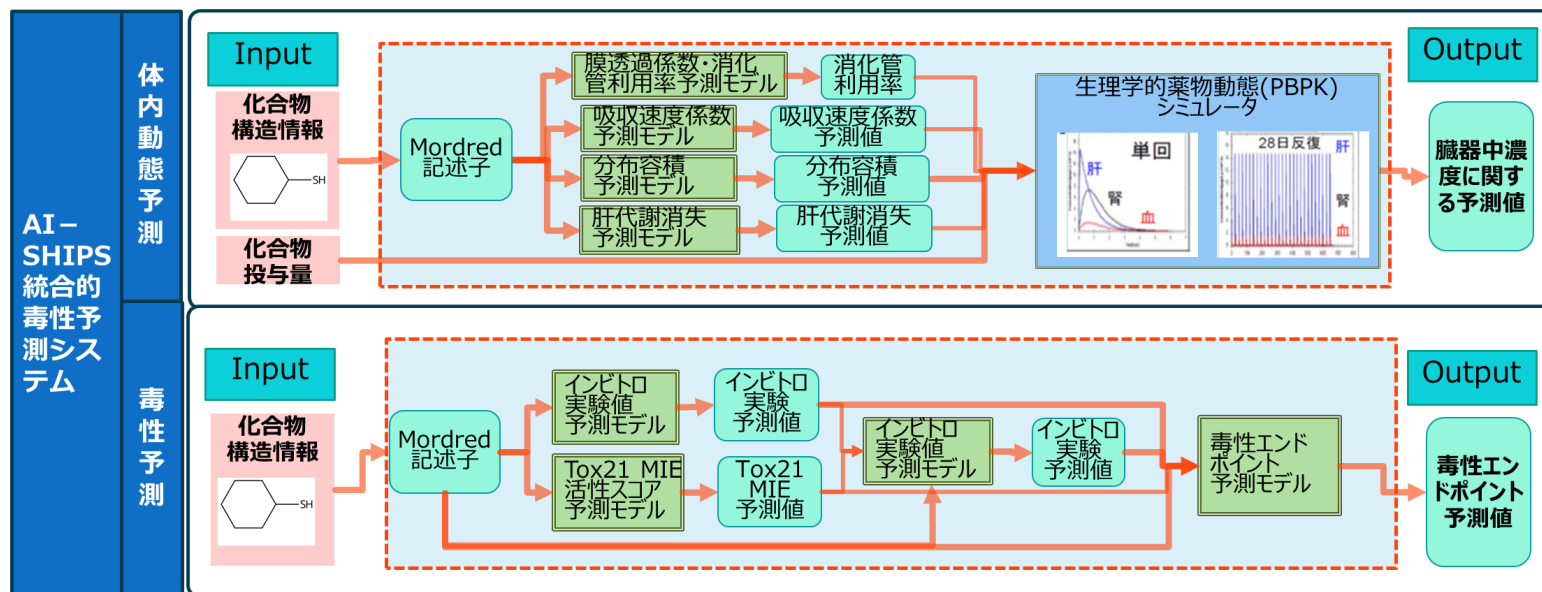
1	QSAR識別子
1.1	QSAR識別子(名称)
1.2	その他の関連モデル
1.3	モデルをコーディングするソフトウェア
2	一般情報
2.0	要約
2.1	QMRFの日付
2.2	QMRFの作成者と連絡先の詳細
2.3	QMRF更新日
2.4	QMRF更新(s)
2.5	モデルの開発者と連絡先の詳細
2.6	モデルの開発及び/又は公表の日付
2.7	主要な科学論文および/またはソフトウェアパッケージへの参照
2.8	モデルに関する情報の可用性
2.9	全く同じモデルに対する別のQMRFの入手可能性
3	エンドポイントの定義-OECD原則1「定義されたエンドポイント」
3.1	種
3.2	終点
3.3	エンドポイントのコメント
3.4	エンドポイント単位
3.5	従属変数
3.6	実験プロトコル
3.7	エンドポイントのデータ品質と変動性
4	アルゴリズムの定義-OECD原則2「明確なアルゴリズム」
4.1	モデルのタイプ
4.2	明示的アルゴリズム
4.3	モデル内の記述子
4.4	記述子の選択
4.5	アルゴリズムと記述子の生成
4.6	記述子生成用のソフトウェア名とバージョン
4.7	化学物質/デスクリプタビ
5	適用領域の定義-OECD原則3「適用領域の定義」
5.1	モデルの適用領域の説明
5.2	適用領域を評価するために使用される方法
5.3	適用領域評価のためのソフトウェアの名前、バージョン
5.4	適用範囲
6	適合度と堅牢性の定義(内部検証)-OECD原則4「適合性、ロバスト性、予測性の適切な測定」
6.1	トレーニングセットの利用可能性
6.2	トレーニングセットで利用可能な情報
6.3	トレーニング・セットに対する各記述子変数のデータ
6.4	トレーニングセットの従属変数のデータ
6.5	トレーニングセットに関するその他の情報
6.6	モデリング前のデータの前処理
6.7	適合度の統計
6.8	ロバストネス-leave-one-outクロス検証によって得られた統計
6.9	堅牢性-leave-many-outクロス検証によって得られた統計
6.10	ロバストネス-Y-スクランプリングによって得られた統計
6.11	堅牢性-ブートストラップによって取得された統計
6.12	ロバストネス-他の方法で得られた統計
7	定義 予測性(外部検証)-OECD原則4「適合性、ロバスト性、予測性の適切な測定」
7.1	外部検証セットの利用可能性
7.2	外部検証セットで利用可能な情報
7.3	外部検証セットの各記述子変数のデータ
7.4	外部検証セットの従属変数のデータ
7.5	外部検証セットに関するその他の情報
7.6	テストセットの実験計画
7.7	予測性-外部検証によって得られた統計
7.8	予測性-外部バリデーションセットの評価
7.9	モデルの外部検証に関するコメント
8	機能的解釈の提供-OECD原則5「可能であれば、反応機構の解釈」
8.1	モデルの機能的基礎
8.2	事前または事後の機能的解釈
8.3	機能的解釈に関する他の情報
9	その他の情報

2. システムの信頼性確保に向けた対応

2.1 QMRFの作成

① QMRFの作成対象

- AI-SHIPSは、**体内動態予測と毒性予測の2つのパート**から構成される（下図参照）。
- 体内動態予測パートについての予測モデルの出力は、機械学習による予測モデルで予測した4つのパラメータ（消化管利用率、吸収速度定数、分布容積および肝代謝固有クリアランス）からシュミレートした肝臓、血液、腎臓中の時間的濃度推移情報等である。したがって、これらのパラメータの予測モデル（4つ）をQMRF作成対象とした。
- 毒性予測パートについての予測対象は、*in vivo*におけるラットの肝毒性、血液毒性、腎毒性であり、QMRF作成対象はこれらの予測モデル(図中㊦、以降「*in vivo*モデル」という。)である。一方、この予測モデルは、記述子（説明変数）としてプロジェクト内で実施した多くの*In vitro*試験やTox21の予測モデルによる推計値を用いており、これらの予測モデル（図中㊦㊧㊨、総称して「*in vitro*モデル」という。）についてもQMRFの作成対象とした。*In vivo*毒性予測のQMRFにおける「4.3 モデルの記述子」にて、これら*In vitro*モデルのQMRFを引用する形式とした。



2.1 QMRFの作成

① QMRFの作成対象 (2)

- 毒性予測パートについて、毒性予測を構成している予測モデルの数は231本である（表参照）が、多くの予測モデルで学習法や用いている記述子が同じであるため、1モデル1 QMRFとするとほぼ同じものが複数作成されることになり、JaCVAMにおけるレビューの負担が増える上、予測モデル理解の目的からも効果的でない。そこで試験系や機械学習方法等でグルーピングして、グループごとのQMRFを作成することとした。

表中の㉖～㉙は、前ページの図中番号と対応する。

評価系		モデル数
㉖	Tox21 MIE活性スコア予測モデル	118
㉗	1. 薬物代謝酵素等反応性評価	
	ラット	P450反応性評価（7分子種、3濃度） 7
	ラット	総UGT活性（1種、3濃度） 1
	2. 酸化還元	
	RatHep	細胞内GSH含量測定（3濃度） 1
	HepG2細胞	細胞内GSH含量測定（3濃度） 1
	ラットNRK-52E細胞	細胞内GSH含量測定（3濃度） 1
	3. タンパク質反応性	
		ADRA（1濃度） 1
	4. 胆汁酸トランスポーター	
	ラット	胆汁酸トランスポーター（MRP2）（1濃度） 1
	ラット	胆汁酸トランスポーター（BSEP）（1濃度） 1
	5. 核内受容体活性化作用評価	
	ラット NR	AHR（3濃度） 1
	ラット NR	PXR（3濃度） 1
	ラット NR	PPARα（3濃度） 1
	ラット NR	RXRα（3濃度） 1
	ラット NR	LXRα, FXR（3濃度） 2
	6. 酵素誘導	
	ラット NR	mRNA 5

評価系		モデル数
㉘	7. 細胞小器官評価（HCA）	
	ラット肝細胞	核（Nuc）、ミトコンドリア（Mit）、細胞骨格（Factin）（6濃度） 15
	HepG2細胞	核（Nuc）、ミトコンドリア（Mit）、細胞骨格（Factin）（6濃度） 12
	ラット肝細胞	中性脂肪（TG）、リン脂質（PL）（6濃度） 2
	HepG2細胞	中性脂肪（TG）、リン脂質（PL）（6濃度） 4
	ラットNRK-52E細胞	核（Nuc）、ミトコンドリア（Mit）、細胞骨格（Factin）（6濃度） 6
	8. 細胞傷害性評価	
	ラット肝細胞	LDH放出（6濃度） 1
	HepG2細胞	LDH放出（6濃度） 1
	ラットNRK-52E細胞	LDH放出（6濃度） 1
	ラット肝細胞	Celltiterアッセイ（6濃度） 1
	HepG2細胞	Celltiterアッセイ（6濃度） 1
	ラットNRK-52E細胞	Celltiterアッセイ（6濃度） 1
	9. ストレス応答シグナル伝達経路に対する影響評価	
	HepG2細胞	酸化ストレス（Nrf2）（6濃度） 3
	HepG2細胞	炎症応答（NF-κB）（6濃度） 3
	HepG2細胞	小胞体ストレス（ATF6）（6濃度） 7
	HepG2細胞	DNA損傷（p53）（6濃度） 3
	HepG2細胞	低酸素ストレス応答（HIF1α）（6濃度） 4
	10. マクロファージ細胞に対する影響評価	
	マウス	マクロファージRAW264.7細胞影響（6濃度） 5
㉙	毒性エンドポイント予測モデル	
		18
(合計)		231

2.1 QMRFの作成

I ①QMRFの作成対象 (3)

- 当初は、毒性パートについて19本、体内動態予測パートについて4本の合計23本のQMRFを作成する予定で作業を開始したが、その後の検討で、モデル構築方法、学習データ、評価方法等が同じモデルをさらに統合し、毒性パートについて9本、体内動態予測パートについて1本の合計10のQMRFに変更した。
- 作成したQMRFは以下の通り。

No.	予測モデル	QMRFで対象とする予測モデルの数
1)	ラット生体内動態予測のための化学物質の消化管利用率FaFg値、吸収速度係定数ka、分布容積V ₁ および肝代謝固有クリアランス肝代謝消失CL _{h,int} 値	4
2)	ラット反復投与毒性試験予測モデル(<i>in vivo</i>)	18
3)	Tox21 MIE活性スコア予測モデル(<i>in vitro</i>)	118
4)	薬物代謝酵素等反応性評価-P450、総UGT活性および胆汁酸トランスポーター反応性評価予測モデル(<i>in vitro</i>)	1
5)	タンパク質反応性-ADRA予測モデル(<i>in vitro</i>)	10
6)	核内受容体活性化作用、mRNA発現レベル評価予測モデル(<i>in vitro</i>)	11
7)	ラットNRK-52E細胞等を用いたハイコンテンツ解析、細胞障害、生存細胞数評価予測モデルならびに総グルタチオン評価予測モデル(<i>in vitro</i>)	17
8)	ラット肝細胞、HepG2細胞を用いたハイコンテンツ解析、細胞障害、生存細胞数評価予測モデル(<i>in vitro</i>)	31
9)	ストレス応答予測モデル(<i>in vitro</i>)	20
10)	マウスマクロファージ様細胞NF- κ B・AP-1応答性予測モデル(<i>in vitro</i>)	5

2.1 QMRFの作成

I ②QMRFの作成方針

- QMRFは、[OECD の最新の様式](#)（v.2.1, ENV/CBC/MONO（2023）32/ANN）を用い、OECD（Q）SARモデル5原則に則り記載した。
- 記載にあたっては、OECDの[行政受け入れのための評価ガイダンス（（Q）SAR Assessment Framework: Guidance for the regulatory assessment of \(Quantitative\) Structure Activity Relationship models, predictions and results based on multiple predictions）](#)を理解して進めた。特に評価者用のQMRFのチェックリストの内容を意識して作成した。
- 本年度においては、JaCVAMがQMRFを通じてAI-SHIPSを理解することを主目的とするため、まずは[理解しやすさのため、日本語](#)で作成した。さらに、将来的にOECD QSAR ツールボックスへの搭載を見据えた対応として、[英語版も作成した](#)。
- QMRFの作成にあたっては、AI-SHIPSプロジェクトで作成されたドキュメントやシステムに搭載されているデータ、論文を元に作成した。

- ✓ 終了時評価における技術資料
- ✓ 各年度の報告書
- ✓ 関連する論文、レポート
- ✓ AI-SHIPSの操作マニュアルや説明書
- ✓ 試験プロトコル
- ✓ モデル・データ管理システムに収載されているデータ（記述子、重要度等）、モデル説明書。

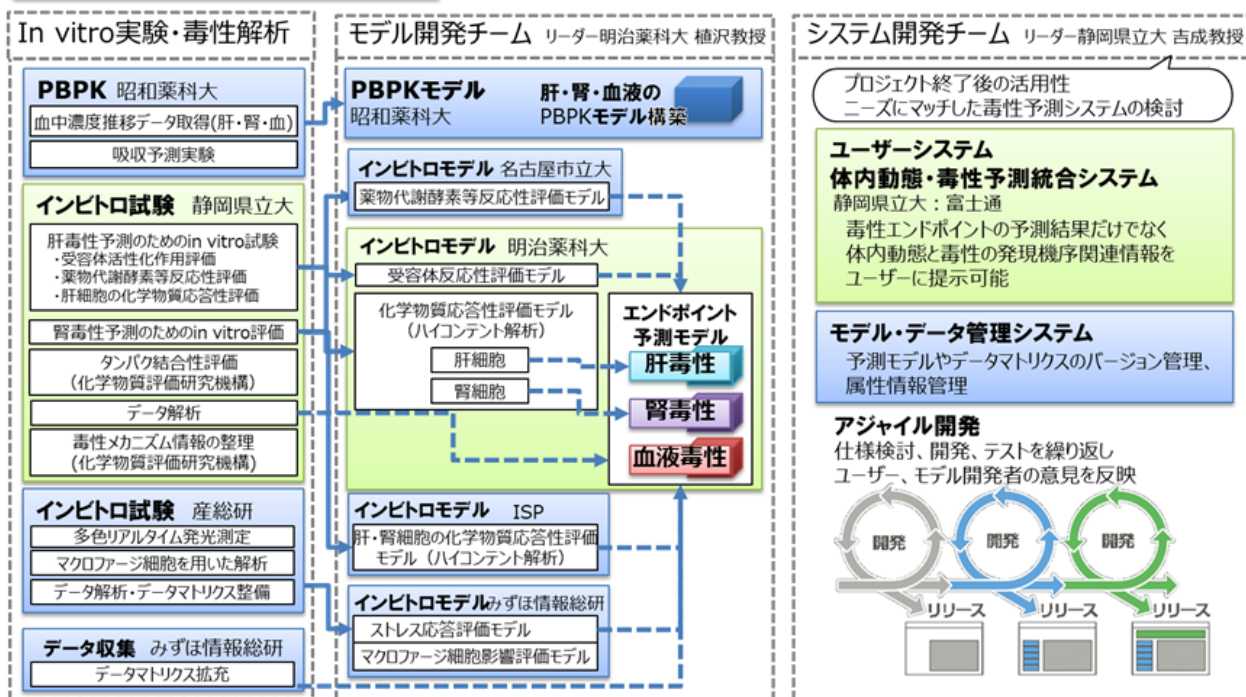
③関係機関の協力

- AI-SHIPSプロジェクトは下図に示す通り多くの機関が参画している。予測モデル構築に関しては6機関(下図の5機関に明治薬科大学並びに昭和薬科大学からの再委託先1者を含む)が担当、*in vitro*試験についても3機関が実施している。
- *In vitro*試験の予測モデルについては、QMRFに*in vitro*試験に関する記載も必要となるため、QMRFを予測モデル構築者だけでなく、*in vitro*試験の担当者にも協力を仰いだ。
- 本事業では、図に示すステップで実施した。

奈良先端科学技術大学院大学

みずほR&T

事務局、データ収集等



Step1

QMRFのドラフト作成

Step2

各QMRFドラフトについて、関係機関による確認

Step3

AI-SHIPSマネジメント機関（奈良先端科学技術大学院大学）による確認

Step4

JaCVAM資料編纂委員会への提示と指摘事項を踏まえた修正

Step5

英訳

図：QMRF作成のステップ

図：AI-SHIPSプロジェクトの全体像

I ④成果物(1)

- 10本のQMRF（和文、英文）を作成した。QMRF毎に、付属資料として学習データや記述子とその重要度等のデータ一式をエクセルファイルに取りまとめた。

No.	予測モデル	QMRF(本体)		添付資料	
		(和文)	(英文)	データ一式（エクセルファイル）	実験プロトコル*
1)	ラット生体内動態予測のための化学物質の消化管利用率FaFg値 吸収速度係定数ka、分布容積V ₁ および肝代謝固有クリアランス 肝代謝消失CL _{h,int} 値	○	○	○	—
2)	ラット反復投与毒性試験予測モデル(in vivo)	○	○	○	—
3)	Tox21 MIE活性スコア予測モデル(in vitro)	○	○	○	○
4)	薬物代謝酵素等反応性評価-P450、総UGT活性および胆汁酸トランス ポーター反応性評価予測モデル(in vitro)	○	○	○	○
5)	タンパク質反応性-ADRA予測モデル(in vitro)	○	○	○	—
6)	核内受容体活性化作用、mRNA発現レベル評価予測モデル(in vitro)	○	○	○	○
7)	ラットNRK-52E細胞等を用いたハイコンテンツ解析、細胞障害 生存細胞数評価予測モデルならびに総グルタチオン評価予測モデル (in vitro)	○	○	○	○
8)	ラット肝細胞、HepG2細胞を用いたハイコンテンツ解析、細胞 障害、生存細胞数評価予測モデル(in vitro)	○	○	○	○
9)	ストレス応答予測モデル(in vitro)	○	○	○	○
10)	マウスマクロファージ様細胞NF- κ B・AP-1応答性予測モデル(in vitro)	○	○	○	○

*AI-SHIPS研究開発プロジェクトの成果物

④ 成果物(2)

	QMRF identifier (JRC Inventory): To be entered by JRC
	QMRF Title: AI-SHIPS ストレス応答予測モデル (in vitro)
	Printing Date:

1. QSAR identifier

1.1. QSAR identifier (title):

AI-SHIPS ストレス応答予測モデル (in vitro)

1.2. Other related models:

AI-SHIPS 統合的毒性予測システムの予測モデルとQMRF一覧をTable 1に示す (本モデルはNo.9)。
本モデルで直接利用している予測モデルは、No.3のTox21 MIE活性スコア予測モデル (in vitro) である。

Table 1 AI-SHIPS 統合的毒性予測システムの予測モデル一覧

No	予測モデル	QMRF ファイル名
1	ラット生体内動態予測のための化学物質の消化管利用率 F_{aFg} 値、吸収速度係数 k_a 、分布容積 V_d および肝代謝固有クリアランス肝代謝消失 $CL_{h,m}$ 値	QMRF_AI-SHIPS_PBPK_4Parameters.pdf
2	ラット反復投与毒性試験予測モデル (in vivo)	QMRF_AI-SHIPS_in_vivo.pdf
3	Tox21 in vitro 予測モデル	QMRF_AI-SHIPS_in_vitro_Tox21.pdf
4	薬物代謝酵素等反応性評価-P450、総 UGT 活性および胆汁酸トランスポーター反応性評価予測モデル (in vitro)	QMRF_AI-SHIPS_in_vitro_P450_UGT_IBAT.pdf
5	タンパク質反応性-ADRA 予測モデル (in vitro)	QMRF_AI-SHIPS_in_vitro_ADRA.pdf
6	核内受容体活性化作用、mRNA 発現レベル評価予測モデル (in vitro)	QMRF_AI-SHIPS_in_vitro_NR_mRNA.pdf
7	ラット NRK-52E 細胞等を用いたハイコンテント解析、細胞障害、生存細胞数評価予測モデルならびに総グルタチオン評価予測モデル (in vitro)	QMRF_AI-SHIPS_in_vitro_HCA_LDH_Celltiter_GSH.pdf
8	ラット肝細胞、HepG2 細胞等を用いたハイコンテント解析、細胞障害、生存細胞数評価予測モデル (in vitro)	QMRF_AI-SHIPS_in_vitro_HCA_LDH_Celltiter.pdf
9	ストレス応答予測モデル (in vitro)	QMRF_AI-SHIPS_in_vitro_RBMS.pdf
10	マウスマクロファージ様細胞 NF- κ B/AP-1 応答性予測モデル (in vitro)	QMRF_AI-SHIPS_in_vitro_RAW.pdf

1.3. Software coding the model:

AI-SHIPS Integrated Toxicity Prediction System
Contact: naist.jp
WWW: <http://www-ai-ships.naist.jp>
この内2.0記載の20モデル。

2. General information

2.0. Abstract

AI-SHIPS ラット反復投与毒性試験予測モデルの説明変数を生成する目的で、化学物質のストレス応答を予測するモデルを構築した。

産業技術総合研究所(AIST)で開発された dual color real-time bioluminescence monitoring system (RBMS)は、ストレス応答配列下流に導入されたラシフェラゼ遺伝子からの発光を約30分毎に測定し、リアルタイムにストレス応答を測定することができる。358化学物質について、この測定系を用いて endoplasmic reticulum stress (ATF6), hypoxia stress (HIF-1), oxidative stress (Nrf2), inflammation (NF- κ B) および DNA damage (p53) の stress responses elements の応答データを取得した。AI-SHIPS のラット反復投与の肝毒性 (in vivo) の各 NOEL と相関の高い時間帯のデータを抽出

1

述子の生成について、入力は SMILES であり、これを RDKit の default 設定で3次元化して mordred 述子を計算している。分子記述子の RDKit 及び mordred 記述子の計算アルゴリズムはそれぞれ原を参照。

Software name and version for descriptor generation:

測モデルのアルゴリズムは既存の下記フリーウェアを使用。

Random forest (scikit-learn 0.22.1) <https://scikit-learn.org/stable/modules/generated/sklearn.ensemble.RandomForestClassifier.html>

LightGBM (v2.3.0) <https://lightgbm.readthedocs.io/en/stable/>

述子の生成に使用したソフトウェアは下記の通り。

RDKit (rdkit 2019.09.3) <https://www.rdkit.org/>

mordred v1.1.2 記述子 <https://github.com/mordred-descriptor/mordred>

AI-SHIPS Tox21 in vitro 試験予測値については、AI-SHIPS Tox21 in vitro 予測モデルのQMRFを参照

Chemicals/Descriptors ratio:

定本系のアルゴリズムのため物質数/記述子数の比は適当な評価指標ではないが、Table 8にこの比を示した。

Table 8 学習データセットの物質数/記述子数

モデル名	物質数	記述子数	比	モデル名	物質数	記述子数	比
-A1	358	30	11.9	ATF6-A2	358	10	35.8
-A2	358	30	11.9	ATF6-A4	358	30	11.9
-A4	358	10	35.8	HIF-A1	358	15	23.9
A1	358	10	35.8	HIF-A2	358	10	35.8
A2	358	10	35.8	HIF-A3	358	15	23.9
A4	358	13	27.5	HIF-A4	358	20	17.9
-A1	358	20	17.9	ELUCatf6-A1	358	10	35.8
-A2	358	15	23.9	ELUCatf6-A2	358	10	35.8
-A4	358	15	23.9	ELUCatf6-A3	358	15	23.9
-A1	358	15	23.9	ELUCatf6-A4	358	15	23.9

Defining the applicability domain - OECD Principle 3

Description of the applicability domain of the model:

モデルでは、適用領域に係る指標を予測値、すなわち、0~1の範囲の予測確率とともに算出される信頼性スコアで示す。信頼性スコアは、各アルゴリズムから出力される0~1の範囲での予測率から、補正済確率と0.5の絶対値の差の2倍(区間[0,1]に変換するため)とした。値が1に近いほど予測確率が高いことを指す。各アルゴリズムの予測確率の算出方法は各アルゴリズムのドキュメントを参照。

Method used to assess the applicability domain:

Hold-outした65物質の予測を行い、この予測確率が「0.5を中心に±[0.05, 0.1, 0.2, 0.15, 0.2]の間に含まれるもの」をapplicability domain (AD)外と定義した場合のBA、感度(sensitivity)、特異性(specificity)をFigure 1に示した(ただし、Table 9で示した化合物数よりも1物質少ない学習データセットを用いている)。横軸は、予測確率が0.5±0.1に含まれる物質をAD外、含まれない物質をADとした際の区間幅である。AD外と定義するprobabilityの幅を広げていくと特異度(下図)は上昇

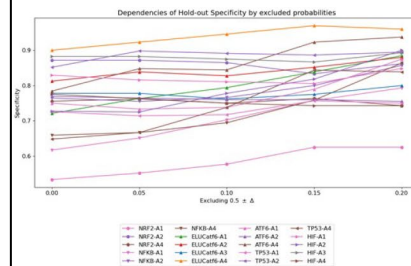
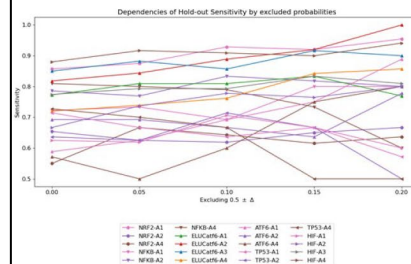
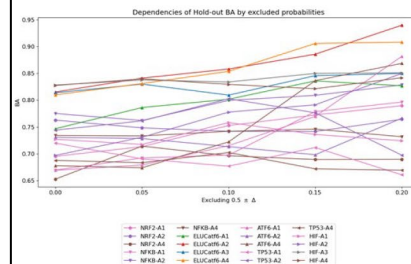


Figure 1 予測probabilityを用いたreliability評価

9

図 ストレス応答シグナル伝達経路に対する影響評価についてのQMRF 例(一部)

④JaCVAM資料編纂委員会等で用いる資料の作成及び説明・質疑応答等の対応

- 資料編纂委員会（第2回：2024年11月12日、第3回：2025年2月12日）にオブザーバとして出席し、提出資料の説明ならびに、質疑応答対応を実施した。
- 第2回では、AI-SHIP全体像を理解いただくための資料ならびにQMRf作成方針の資料を提出した。その後、3本のQMRfを提出した。第3回では、AI-SHIPS毒性予測事例を提出した。第3回の後に、先に提出した3本のQMRfのフィードバックを受領し、それを踏まえて修正し、全10本のQMRfを提出した。
- 適宜、委員からの質問に対応した。また委員に対して、AI-SHIPS ユーザーシステムの利用環境を提供（ユーザーIDの付与）した。

表 JaCVAM資料編纂委員会への提出資料

時期	提出資料	備考
11月	■ 全体像の説明資料 ■ 予測の流れと結果表示（動画補足資料） ■ QMRf作成方針	第2回資料編纂委員会説明資料
12月	■ QMRf(3本)	—
2月	■ AI-SHIPS毒性予測事例	第3回資料編纂委員会説明資料
3月	■ QMRf(10本)	—

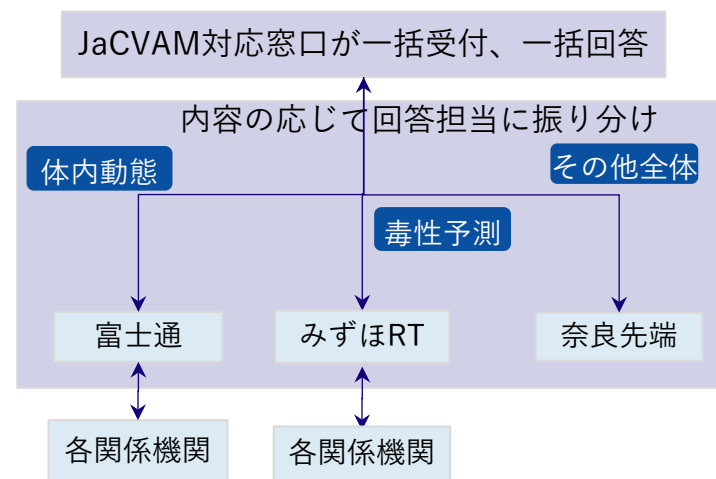


図 質疑応答の対応ルート

質疑の受付とエクスカージョンルート

3. 将来の行政利用に向けた検討・対応

3.1 実施内容と方法

化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）における反復投与毒性試験の結果が公表されている化学物質や親物質の分解生成物である化学物質等について、10件程度の事例を抽出し、本システムを用いた予測結果と反復投与毒性試験結果を比較する。

また、比較結果から、毒性の有無が正確に予測できる範囲の化学構造を整理する等、将来の行政利用に向けた活用方法を提案する。

- 化学物質の安全性の評価は、従来、反復投与毒性試験など動物実験により行われてきた。しかし、動物実験は高額のコストや時間がかかること、また動物福祉の観点から、化学物質の構造から毒性を予測するQSAR（定量的構造活性相関）などの代替手法の開発が進められてきた。
- 一方で、これらの手法は、毒性発現機序との関連性が明らかでないといった課題がある。
- 化学構造および物性情報とインビトロ、インビボ試験結果を学習データとして、毒性情報に加え毒性発現機序情報も提示可能な毒性発現予測システム（AI-SHIPS）では、予測結果の信頼性（モデルの適用範囲、AD）がケミカルスペースとして示されるが、具体的に正確に予測できる構造に関するケーススタディが不足している。
- そこで、本調査では、以下の手順で検討を行った。

■ ①ケーススタディ対象化学物質の選定

■ ②予測結果と試験結果の比較・考察

■ ③将来の行政利用に向けた活用方法の提案

3 将来の行政利用に向けた検討・対応.

3.2 ケーススタディ対象物質の選定

- 計527物質の候補のうち、ケミカルスペースを確認しながら、以下の10物質を抽出した。
- このうち、No.1～6について結果の解釈事例を作成した。

No.	Substance Name	CASRN	NOEL (反復投与毒性試験)	SMILES	出所
1	butyl N-[(butylsulfanyl)methanethiyl]carbamate	1001320-38-2	< 15 mg/kg bw/day	<chem>O=C(OCCCC)NC(=S)SCCCC</chem>	REACH 登録情報
2	1,4-bis(propan-2-yl)benzene	100-18-5	1000 mg/kg bw/day	<chem>CC(C)c1ccc(cc1)C(C)C</chem>	REACH 登録情報
3	(2S)-1-[(2R)-2-amino-6-(2,2,2-trifluoroacetamido)hexanoyl]pyrrolidine-2-carboxylic acid	103300-89-6	> 1000 mg/kg bw/day	<chem>C([C@H])(CCCCNC(C(F)(F)F)=O)N)(=O)N1[C@H](C(O)=O)CCC1</chem>	REACH 登録情報
4	cyclohexane-1,4-dicarboxylic acid	1076-97-7	>= 894 mg/kg bw/day, >= 871 mg/kg bw/day	<chem>O=C(O)C1CCC(C(=O)O)CC1</chem>	REACH 登録情報
5	5-bromo-1,3-dichloro-2-fluorobenzene	17318-08-0	30 mg/kg bw/day	<chem>FC1=C(Cl)C=C(Br)C=C1Cl</chem>	REACH 登録情報
6	O-（3-クロロ-（E）-アリル）ヒドロキシルアミン	87851-77-2	1 mg/kg bw/day	<chem>C(=C/C=C/Cl)N</chem>	化審法新規審査シート
7	ビス {4- [4-（アクリロイルオキシ）ブトキシ] 安息香酸} = 2-メチル-1, 4-フェニレン	132900-75-5	1000 mg/kg bw/day	<chem>C=CC(=O)OCCCCOc1ccc(C(=O)Oc2ccc(OC(=O)c3ccc(OCCCCOC(=O)C=C)cc3)c(C)c2)cc1</chem>	化審法新規審査シート
8	propylene dinonanoate	41395-83-9	>= 2500 mg/kg bw/day	<chem>CCCCCCCCC(=O)OCC(C)OC(=O)CCCCCCCCC</chem>	REACH 登録情報
9	ethyl 2-hydroxypropanoate	97-64-3	ca. 600 mg/kg bw/day	<chem>CCOC(=O)C(C)O</chem>	REACH 登録情報
10	6, 14-ジクロロ-3, 11-ジエチル-5, 13-ジオキサ-1, 3, 7, 9, 11, 15-ヘキサアザ-1, 9-ジヒドロジシクロペンタ [b, m] ペンタセン-2, 10 (3H, 11H)-ジオン	244303-78-4	1000 mg/kg bw/day	<chem>CCn1c(=O)[nH]c2cc3c(cc21)Oc1c(Cl)c2c(c(Cl)c1=N3)Oc1cc3c(cc1N=2)[nH]c(=O)n3CC</chem>	化審法新規審査シート

3 将来の行政利用に向けた検討・対応.

3.2 ケーススタディ対象物質の選定

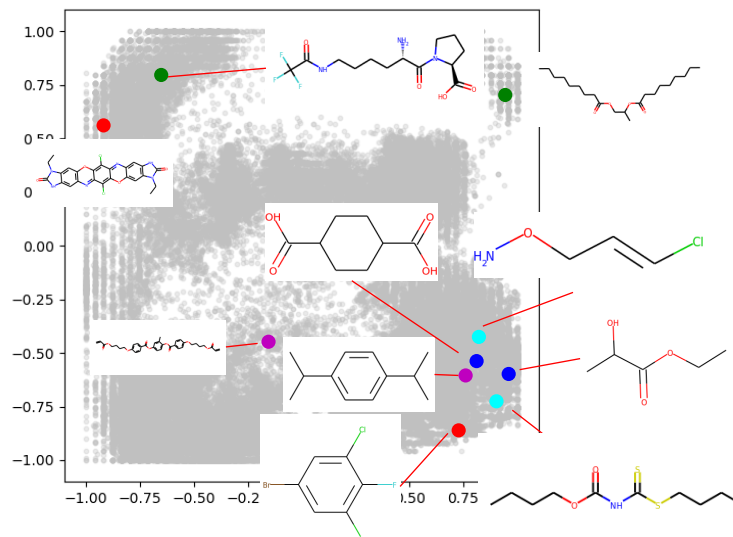
ケミカルスペース

- 予測対象がケミカルスペースの図において、AI-SHIPSの学習データの近傍領域に入ることを確認した。

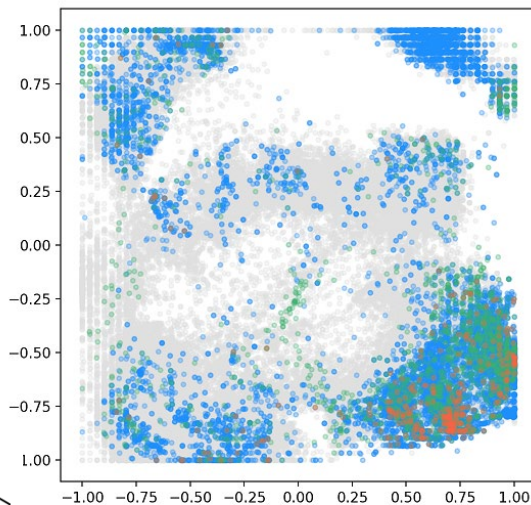
Color	物質ID	X	Y
●	87851-77-2	0.9039	-0.7288
●	17318-08-0	0.7320	-0.8689
●	1076-97-7	0.8066	-0.5500
●	103300-89-6	-0.6623	0.7950
●	100-18-5	0.7663	-0.5995
●	1001320-38-2	0.8175	-0.4379

Color	物質ID	X	Y
●	244303-78-4	-0.9203	0.5497
●	97-64-3	0.9623	-0.5817
●	41395-83-9	0.9314	0.6954
●	132900-75-5	-0.1593	-0.4528
●	87851-77-2	0.9039	-0.7288
●	17318-08-0	0.7320	-0.8689
●	1076-97-7	0.8066	-0.5500
●	103300-89-6	-0.6623	0.7950
●	100-18-5	0.7663	-0.5995
●	1001320-38-2	0.8175	-0.4379

毒性予測CS

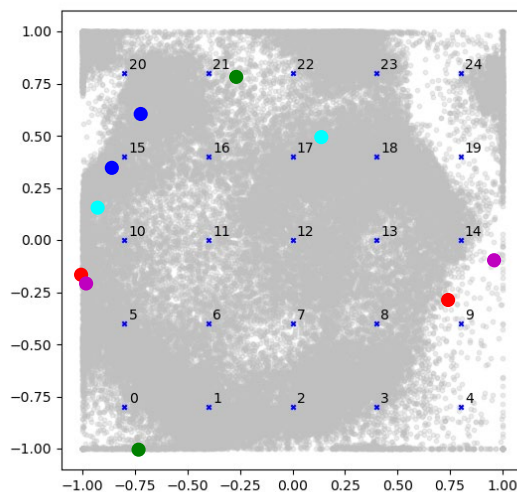


毒性予測バックグラウンドCS

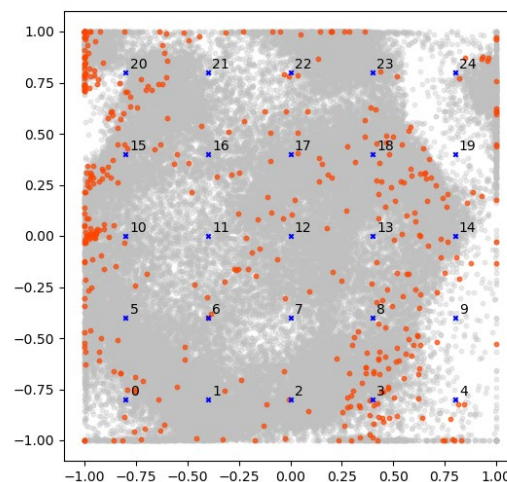


● Tox21
● *in vivo*
● *in vitro*

体内動態予測CS



体内動態予測バックグラウンドCS

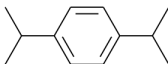
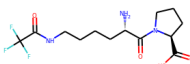
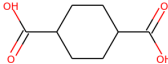
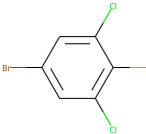
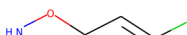


3 将来の行政利用に向けた検討・対応.

3.2 ケーススタディ対象物質の選定

I 記述子の値

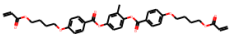
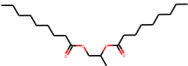
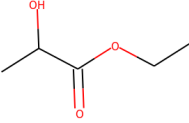
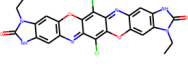
- 予測対象の主要なmordred記述子が、学習データの範囲にあることを確認した。

物質ID			1001320-38-2	100-18-5	103300-89-6	1076-97-7	17318-08-0	87851-77-2
化学構造								
Descriptor	Max	Min	value	value	value	value	value	value
MW_2D	2284.0546	31.0422	249.0857	162.1409	339.1406	1720736	241.8701	107.0138
AMW_2D	208.9804	4.3586	7.3261	5.4047	7.8870	7.1697	20.1558	8.9178
SLogP_2D	37.8040	-15.2306	3.3309	3.9334	0.2381	0.9620	3.8950	0.6292
SMR_2D	696.5154	0	69.3557	54.6200	73.2619	40.7196	44.1200	25.1324
TPSA_3D	740.9473	0	41.4090	0	158.6880	193.9188	34.8874	33.2721
nHBAcc_2D	38	0	4	0	4	2	0	2
nHBDOn_2D	21	0	1	0	3	2	0	1
nRot_2D	112	0	6	2	7	2	0	2
RotRatio_2D	0.9091	0	0.4286	0.1667	0.3043	0.1667	0	0.4000
nAcid_2D	8	0	0	0	1	2	0	0
nBase_2D	8	0	0	0	1	0	0	0
apol_2D	422.3382	4.1728	37.8731	32.0423	43.2249	24.5695	19.3206	13.0928
bpol_2D	296.4017	0	25.9249	18.0577	27.7171	13.7745	5.5194	6.5552
nAromAtom_2D	80	0	0	6	0	0	6	0
nAromBond_2D	82	0	0	6	0	0	6	0

3 将来の行政利用に向けた検討・対応.

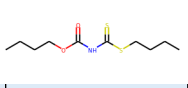
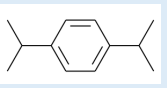
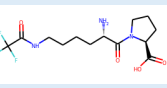
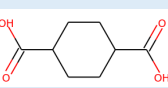
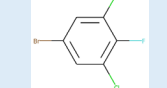
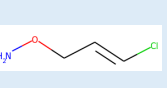
3.2 ケーススタディ対象物質の選定

I 記述子の値

物質ID			132900-75-5	41395-83-9	97-64-3	244303-78-4
化学構造						
Descriptor	Max	Min	value	value	value	value
MW_2D	2284.0546	31.0422	616.2308	356.2927	118.0630	522.0610
AMW_2D	208.9804	4.3586	7.6078	5.4814	6.5591	10.0396
SLogP_2D	37.8040	-15.2306	6.2098	5.9625	-0.0697	4.4332
SMR_2D	696.5154	0	165.7500	102.4990	28.3138	134.7074
TPSA_3D	740.9473	0	188.4693	60.1112	92.3594	154.5988
nHBAcc_2D	38	0	10	4	3	8
nHBDon_2D	21	0	0	0	1	2
nRot_2D	112	0	18	17	2	2
RotRatio_2D	0.9091	0	0.3830	0.7083	0.2857	0.0476
nAcid_2D	8	0	0	0	0	0
nBase_2D	8	0	0	0	0	0
apol_2D	422.3382	4.1728	90.4745	64.9497	17.4239	64.9167
bpol_2D	296.4017	0	50.0035	45.3363	12.6361	29.1193
nAromAtom_2D	80	0	18	0	0	24
nAromBond_2D	82	0	18	0	0	26

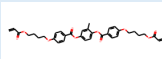
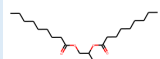
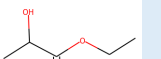
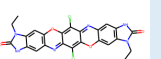
3.3 結果と試験結果の比較・考察

I 予測結果一覧 (体内動態)

				1001320-38-2	100-18-5	103300-89-6	1076-97-7	17318-08-0	87851-77-2
									
膜透過	膜透過係数	Papp A to B/(nm/s)		50	424	19	29	132	59
		Papp B to A/(nm/s)		67	350	58	43	103	227
体内動態	吸収	FaFg	割合	0.91	0.91	0.63	0.86	0.92	0.90
		インビボ吸収速度定数	予測値(1/h)	38.00	0.08	8.02	0.05	0.04	1.76
	分布	インビボ分布容積	予測値(L)	0.13	5.35	14.67	0.00018	1.06	0.0033
		肝代謝消失	インビボ肝固有クリアランス	予測値(L/h)	66.36	40.84	0.15	2.68	15.94
	腎排出	インビボ腎クリアランス	予測値(L/h)	0.01	0.01	0.01	0.06	0.00	0.02
		血液(血漿)	単回投与 AUC	予測値((mg/L)h)	1,029.6	139.0	72.1	22.4	655.0
		単回投与 Cmax	予測値(mg/L)	371.5	7.4	3.3	1.6	42.4	383.5
		28日間反復投与 AUC	予測値((mg/L)h)	28,830.4	10,516.5	10,191.3	899.5	114,212.2	7,871.4
		28日間反復投与 Cmax	予測値(mg/L)	371.5	17.0	19.1	2.3	183.4	383.5
	肝臓	単回投与 AUC	予測値((mg/L)h)	6,435.6	1,219.0	66.0	17.9	4,481.5	198.7
		単回投与 Cmax	予測値(mg/L)	4,258.0	54.6	140.5	1.3	272.1	278.1
		28日間反復投与 AUC	予測値((mg/L)h)	180,229.6	70,116.9	6,464.7	720.5	722,077.5	5,565.6
		28日間反復投与 Cmax	予測値(mg/L)	4,263.9	125.8	149.8	1.8	1,158.9	278.1
	腎臓	単回投与 AUC	予測値((mg/L)h)	6,629.3	921.4	46.2	16.1	4,122.9	193.4
		単回投与 Cmax	予測値(mg/L)	2,356.3	48.9	2.1	1.1	267.7	262.5
		28日間反復投与 AUC	予測値((mg/L)h)	185,634.6	69,864.2	6,525.3	648.4	721,042.5	5,416.7
		28日間反復投与 Cmax	予測値(mg/L)	2,356.5	113.0	12.2	1.6	1,158.0	262.6

3 将来の行政利用に向けた検討・対応.
3.3 結果と試験結果の比較・考察

予測結果一覧（体内動態）

				132900-75-5 	41395-83-9 	97-64-3 	244303-78-4 
膜透過	膜透過係数	Papp A to B/(nm/s)		81.615	35.929	282.550	39.492
		Papp B to A/(nm/s)		145.876	185.709	86.560	489.218
体内動態	吸収	FaFg	割合	0.803	0.853	0.909	0.819
		インビボ吸収速度定数	予測値(1/h)	8.934	2.915	11.618	0.062
	分布	インビボ分布容積	予測値(L)	0.941	0.264	0.154	0.052
		肝代謝消失	インビボ肝固有クリアランス	予測値(L/h)	1.500	20.879	0.155
	腎排出	インビボ腎クリアランス	予測値(L/h)	0.021	0.060	0.011	0.020
		血液(血漿)	単回投与 AUC	予測値((mg/L)h)	214	31	477
	単回投与 Cmax		予測値(mg/L)	44	28	360	13
	28日間反復投与 AUC		予測値((mg/L)h)	6019	864	13352	6372
	28日間反復投与 Cmax		予測値(mg/L)	45	28	360	16
	肝臓	単回投与 AUC	予測値((mg/L)h)	1643	214	326	1168
		単回投与 Cmax	予測値(mg/L)	1947	407	417	84
		28日間反復投与 AUC	予測値((mg/L)h)	46171	5992	9134	42562
		28日間反復投与 Cmax	予測値(mg/L)	1949	408	417	109
	腎臓	単回投与 AUC	予測値((mg/L)h)	1674	224	342	1157
		単回投与 Cmax	予測値(mg/L)	346	201	258	83
		28日間反復投与 AUC	予測値((mg/L)h)	47062	6277	9572	42273
		28日間反復投与 Cmax	予測値(mg/L)	347	201	258	109

3.3 結果と試験結果の比較・考察

I 予測結果一覧（毒性）

				1001320-38-2	100-18-5	103300-89-6	1076-97-7	17318-08-0	87851-77-2	信頼スコアの閾値
肝毒性	細胞傷害・炎症	NOEL ≦ 30モデル	予測結果	陽性	陰性	陰性	陰性	陰性	陽性	0.37
			信頼性スコア	0.39	0.67	0.22	0.83	0.45	0.18	
		NOEL ≦ 300モデル	予測結果	陽性	陰性	陰性	陰性	陽性	陽性	0.33
			信頼性スコア	0.19	0.16	0.45	0.68	0.32	0.11	
	肝機能低下	NOEL ≦ 30モデル	予測結果	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陽性	0.37
			信頼性スコア	0.30	0.26	0.23	0.20	0.09	0.01	
		NOEL ≦ 300モデル	予測結果	陽性	陰性	陰性	陰性	陰性	陽性	0.29
			信頼性スコア	0.13	0.02	0.34	0.45	0.05	0.70	
	肝機能亢進	NOEL ≦ 30モデル	予測結果	陽性	陰性	陽性	陰性	陽性	陽性	0.049
			信頼性スコア	0.13	0.03	0.07	0.22	0.17	0.28	
		NOEL ≦ 300モデル	予測結果	陽性	陰性	陰性	陰性	陰性	陽性	0.37
			信頼性スコア	0.03	0.16	0.22	0.86	0.54	0.14	
	胆管障害	NOEL ≦ 30モデル	予測結果	陰性	陰性	陽性	陰性	陽性	陽性	0.224
			信頼性スコア	0.02	0.09	0.06	0.04	0.31	0.03	
		NOEL ≦ 300モデル	予測結果	陽性	陰性	陰性	陰性	陽性	陽性	0.39
			信頼性スコア	0.19	0.62	0.83	0.84	0.17	0.35	
	肥大	NOEL ≦ 30モデル	予測結果	陰性	陰性	陰性	陰性	陽性	陽性	0.119
			信頼性スコア	0.10	0.12	0.30	0.47	0.10	0.01	
		NOEL ≦ 300モデル	予測結果	陽性	陽性	陰性	陰性	陽性	陽性	0.35
			信頼性スコア	0.02	0.10	0.55	0.63	0.07	0.08	
	脂質代謝異常	NOEL ≦ 30モデル	予測結果	陰性	陰性	陰性	陰性	陽性	陰性	0.247
			信頼性スコア	0.22	0.26	0.26	0.38	0.03	0.09	
		NOEL ≦ 300モデル	予測結果	陽性	陰性	陰性	陰性	陽性	陽性	0.39
			信頼性スコア	0.17	0.26	0.26	0.24	0.42	0.62	
腎毒性	腎障害	NOEL ≦ 30モデル	予測結果	陽性	陽性	陽性	陰性	陽性	陽性	0.078
			信頼性スコア	0.13	0.14	0.32	0.02	0.43	0.30	
		NOEL ≦ 300モデル	予測結果	陽性	陰性	陰性	陰性	陽性	陽性	0.36
			信頼性スコア	0.20	0.25	0.65	0.86	0.16	0.02	
血液毒性	凝固障害	NOEL ≦ 30モデル	予測結果	陰性	陰性	陰性	陰性	陽性	陰性	0.243
			信頼性スコア	0.24	0.27	0.24	0.28	0.14	0.15	
		NOEL ≦ 300モデル	予測結果	陽性	陰性	陰性	陰性	陽性	陽性	0.09
			信頼性スコア	0.03	0.38	0.56	0.79	0.07	0.23	
	貧血	NOEL ≦ 30モデル	予測結果	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	陰性	0.396
			信頼性スコア	0.21	0.74	0.39	0.76	0.35	0.18	
MIZUHO みずほリサーチ&テクノロジーズ			NOEL ≦ 300モデル	予測結果	陰性	陰性	陰性	陰性	陽性	0.4
			信頼性スコア	0.05	0.46	0.70	0.75	0.16	0.19	

3.3 結果と試験結果の比較・考察

I 予測結果一覧（毒性）

				103300-89-6	1076-97-7	17318-08-0	87851-77-2	信頼スコアの閾値
肝毒性	細胞傷害・炎症	NOEL ≤ 30モデル	予測結果	陰性	陰性	陰性	陰性	
			信頼性スコア	0.507	0.819	0.732	0.624	0.37
		NOEL ≤ 300モデル	予測結果	陰性	陰性	陰性	陰性	
			信頼性スコア	0.799	0.693	0.888	0.771	0.33
	肝機能低下	NOEL ≤ 30モデル	予測結果	陰性	陰性	陰性	陰性	
			信頼性スコア	0.304	0.369	0.278	0.168	0.37
		NOEL ≤ 300モデル	予測結果	陰性	陰性	陰性	陰性	
			信頼性スコア	0.608	0.624	0.289	0.656	0.29
	肝機能亢進	NOEL ≤ 30モデル	予測結果	陰性	陰性	陰性	陰性	
			信頼性スコア	0.146	0.008	0.217	0.154	0.049
		NOEL ≤ 300モデル	予測結果	陰性	陰性	陰性	陰性	
			信頼性スコア	0.850	0.828	0.706	0.884	0.37
	胆管障害	NOEL ≤ 30モデル	予測結果	陰性	陰性	陰性	陰性	
			信頼性スコア	0.133	0.326	0.325	0.121	0.224
		NOEL ≤ 300モデル	予測結果	陰性	陰性	陰性	陰性	
			信頼性スコア	0.923	0.860	0.933	0.792	0.39
	肥大	NOEL ≤ 30モデル	予測結果	陰性	陰性	陰性	陰性	
			信頼性スコア	0.465	0.391	0.469	0.494	0.119
		NOEL ≤ 300モデル	予測結果	陰性	陰性	陰性	陰性	
			信頼性スコア	0.803	0.516	0.379	0.888	0.35
	脂質代謝異常	NOEL ≤ 30モデル	予測結果	陰性	陰性	陰性	陰性	
			信頼性スコア	0.396	0.523	0.335	0.335	0.247
		NOEL ≤ 300モデル	予測結果	陰性	陰性	陰性	陰性	
			信頼性スコア	0.642	0.581	0.800	0.646	0.39
腎毒性	腎障害	NOEL ≤ 30モデル	予測結果	陰性	陰性	陰性	陰性	
			信頼性スコア	0.098	0.072	0.224	0.047	0.078
		NOEL ≤ 300モデル	予測結果	陰性	陰性	陰性	陰性	
			信頼性スコア	0.953	0.802	0.916	0.903	0.36
血液毒性	凝固障害	NOEL ≤ 30モデル	予測結果	陰性	陰性	陰性	陰性	
			信頼性スコア	0.254	0.331	0.343	0.199	0.243
		NOEL ≤ 300モデル	予測結果	陰性	陰性	陰性	陰性	
			信頼性スコア	0.704	0.485	0.663	0.863	0.09
	貧血	NOEL ≤ 30モデル	予測結果	陰性	陰性	陰性	陰性	
			信頼性スコア	0.654	0.698	0.533	0.655	0.396
		NOEL ≤ 300モデル	予測結果	陰性	陰性	陰性	陰性	
			信頼性スコア	0.856	0.784	0.772	0.855	0.4

3 将来の行政利用に向けた検討・対応.

3.3 結果と試験結果の比較・考察

I (参考) AI-SHIPSによる予測結果の見方 (信頼性スコアの取扱い)

- AI-SHIPS統合的毒性予測システムにおける予測結果の適用可否については、「陰性」「陽性」の結果だけではなく、その信頼性スコアをもとに判断する必要がある。

肝毒性	細胞傷害・炎症	NOEL $\leq$ 30モデル	予測結果	陽性 Mechanism
			信頼性スコア	0.2545
		NOEL $\leq$ 300モデル	予測結果	陽性 Mechanism
			信頼性スコア	0.2623
	肝機能低下	試験値	NOEL(mg/kg/day)	N/A
		NOEL $\leq$ 30モデル	予測結果	陰性 Mechanism
			信頼性スコア	0.3318
		NOEL $\leq$ 300モデル	予測結果	陽性 Mechanism
			信頼性スコア	0.1000

①同じモデルでは、化合物間の信頼性を比較可能である。
例えば、「肝毒性/細胞障害・炎症」で予測結果が1（毒性あり）である2種類の化合物について、片方が信頼性0.8、もう片方が信頼性0.1の時、前者は毒性ありの可能性が高いが、後者は毒性ありの予測が誤っている可能性も考えられる。

②異なるモデル間での信頼性スコアの比較ができない。
例えば、「肝毒性/細胞障害・炎症」の信頼性0.7と「血液毒性/凝固/NOEL」の信頼性0.7の意味合いは異なる。

③下表で示される信頼性スコアの閾値は、AI-SHIPSデータベースで検証した際にhold-out検証と同等の性能を発揮する信頼性スコア閾値である。例えば、AI-SHIPSデータベースと大きくケミカルスペースの異なる化合物群においては表の閾値が最適でない可能性がある。

エンドポイント	NOEL $\leq$ 300モデル		NOEL $\leq$ 30モデル	
	信頼性スコアの閾値	カバー率	信頼性スコアの閾値	カバー率
細胞傷害・炎症	0.330	63.2%	0.370	47.3%
肝機能低下	0.290	57.7%	0.370	31.9%
肝機能亢進	0.370	60.4%	0.049	40.1%
胆管障害	0.390	57.1%	0.224	71.4%
肥大	0.350	34.6%	0.119	69.2%
脂質代謝異常	0.390	48.4%	0.247	44.5%
腎障害	0.360	40.1%	0.078	50.5%
凝固障害	0.090	85.2%	0.243	76.9%
貧血	0.400	61.0%	0.396	35.7%

3 将来の行政利用に向けた検討・対応.

3.3 結果と試験結果の比較・考察

I (参考) hold-out評価結果

- hold-out評価結果は以下のとおり。

		Predicted	
		positive	negative
Actual	positive	TP	FN
	negative	FP	TN

$$\text{感度} = \frac{TP}{TP + FN}$$

$$\text{特異度} = \frac{TN}{FP + TN}$$

$$\text{BA} = (\text{感度} + \text{特異度}) / 2$$

モデル	BA	ROC-AUC	感度	特異度	TP	FP	FN	TN
EP_LV01_NOEL_300	0.768	0.805	0.708	0.827	17	56	7	268
EP_LV01_NOEL_30	0.738	0.784	0.726	0.749	85	58	32	173
EP_LV02_NOEL_300	0.706	0.716	0.667	0.746	14	83	7	244
EP_LV02_NOEL_30	0.716	0.748	0.669	0.762	81	54	40	173
EP_LV03_NOEL_300	0.738	0.799	0.833	0.642	20	116	4	208
EP_LV03_NOEL_30	0.755	0.807	0.8	0.71	88	69	22	169
EP_LV04_NOEL_300	0.733	0.785	0.556	0.91	15	29	12	292
EP_LV04_NOEL_30	0.72	0.754	0.714	0.725	90	61	36	161
EP_LV05_NOEL_300	0.705	0.771	0.786	0.623	44	110	12	182
EP_LV05_NOEL_30	0.727	0.766	0.746	0.708	132	50	45	121
EP_LV06_NOEL_300	0.777	0.788	0.854	0.7	35	92	6	215
EP_LV06_NOEL_30	0.73	0.78	0.73	0.73	111	53	41	143
EP_BL01_NOEL_300	0.718	0.763	0.947	0.489	18	168	1	161
EP_BL01_NOEL_30	0.729	0.801	0.817	0.64	103	80	23	142
EP_BL02_NOEL_300	0.791	0.824	0.742	0.839	23	51	8	266
EP_BL02_NOEL_30	0.734	0.793	0.802	0.667	101	74	25	148
EP_KD_01_NOEL_300	0.701	0.715	0.595	0.807	22	60	15	251
EP_KD_01_NOEL_30	0.698	0.759	0.692	0.704	110	56	49	133

3 将来の行政利用に向けた検討・対応.

3.3 結果と試験結果の比較・考察

■ 事例1 : butyl N-[(butylsulfanyl)methanethioyl]carbamate
(1001320-38-2)

● REACHにおける毒性所見



- 試験：OECD Guideline 407, GLP (15, 40, 100 mg/kg/day)
- 所見：
100 mg/kg/日を投与された動物の雌雄において、肝細胞の空胞変性および壊死が観察。
40 mg/kg/日で1匹の雌と2匹の雄、および15 mg/kg/日で3匹の雄にも同様の影響が見られた

細胞傷害・炎症は、300のモデルでは信頼性スコアがやや低い
が、30では信頼性スコアが閾値より高い
肝機能低下～脂質代謝異常、腎臓、血液の予測結果は、信頼性スコアが閾値より低い

(参考) hold-out評価結果 (p.5再掲)

	モデル	BA	ROC-AUC	感度	特異度
細胞傷害・炎症	NOEL ≤ 30	0.738	0.784	0.726	0.749
	NOEL ≤ 300	0.768	0.805	0.708	0.827
脂質代謝異常	NOEL ≤ 30	0.73	0.78	0.73	0.73
	NOEL ≤ 300	0.777	0.788	0.854	0.7
腎障害	NOEL ≤ 30	0.698	0.759	0.692	0.704
	NOEL ≤ 300	0.701	0.715	0.595	0.807

		モデル		1001320-38-2	信頼スコアの閾値
肝毒性	細胞傷害・炎症	NOEL ≤ 30	予測結果	陽性	
			信頼性スコア	0.39	0.37
		NOEL ≤ 300	予測結果	陽性	
			信頼性スコア	0.19	0.33
	肝機能低下	NOEL ≤ 30	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.30	0.37
		NOEL ≤ 300	予測結果	陽性	
			信頼性スコア	0.13	0.29
	肝機能亢進	NOEL ≤ 30	予測結果	陽性	
			信頼性スコア	0.13	0.049
		NOEL ≤ 300	予測結果	陽性	
			信頼性スコア	0.03	0.37
腎毒性	胆管障害	NOEL ≤ 30	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.02	0.224
		NOEL ≤ 300	予測結果	陽性	
			信頼性スコア	0.19	0.39
	肥大	NOEL ≤ 30	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.10	0.119
		NOEL ≤ 300	予測結果	陽性	
			信頼性スコア	0.02	0.35
	脂質代謝異常	NOEL ≤ 30	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.22	0.247
		NOEL ≤ 300	予測結果	陽性	
			信頼性スコア	0.17	0.39
血液毒性	腎障害	NOEL ≤ 30	予測結果	陽性	
			信頼性スコア	0.13	0.078
		NOEL ≤ 300	予測結果	陽性	
			信頼性スコア	0.20	0.36
	凝固障害	NOEL ≤ 30	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.24	0.243
		NOEL ≤ 300	予測結果	陽性	
			信頼性スコア	0.03	0.09
	貧血	NOEL ≤ 30	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.21	0.396
		NOEL ≤ 300	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.05	0.4

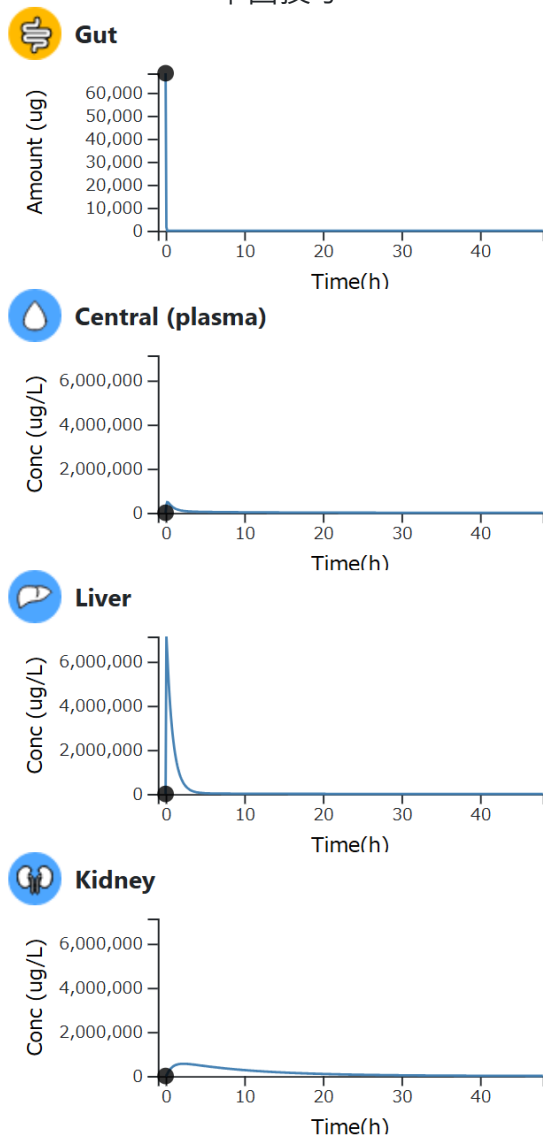
3 将来の行政利用に向けた検討・対応.

3.3 結果と試験結果の比較・考察

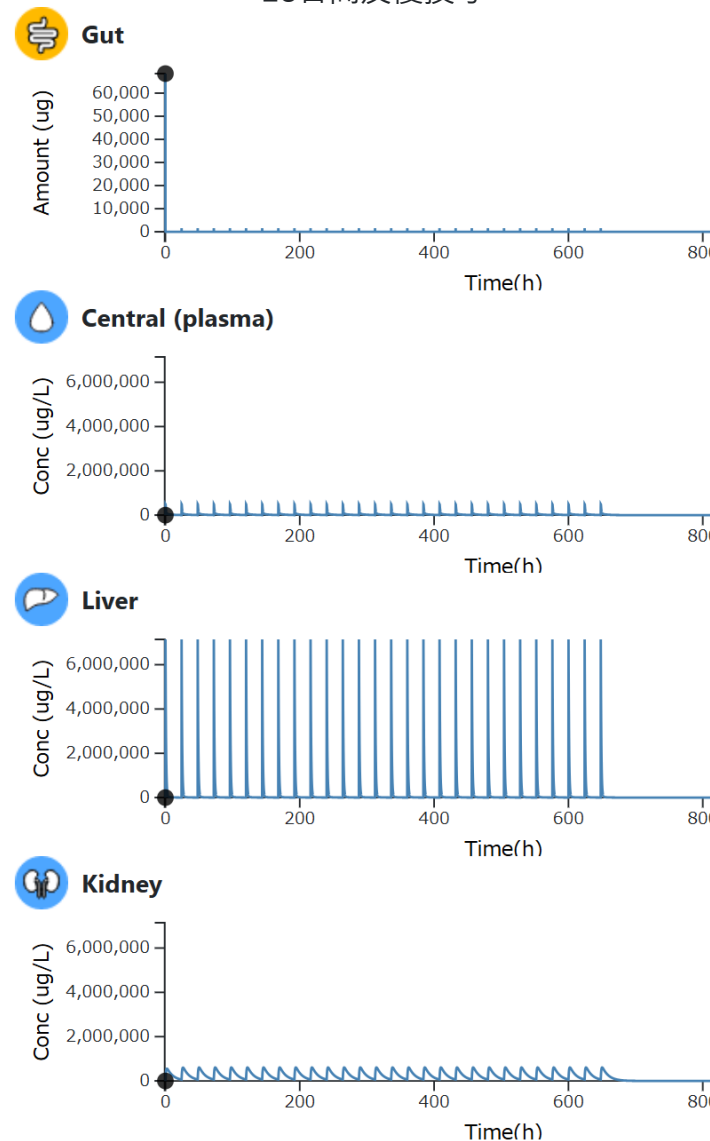
■ 事例1 : butyl N-[(butylsulfanyl)methanethioyl]carbamate (1001320-38-2)

- 体内動態に関する予測結果 (投与量 300 mg/kg)

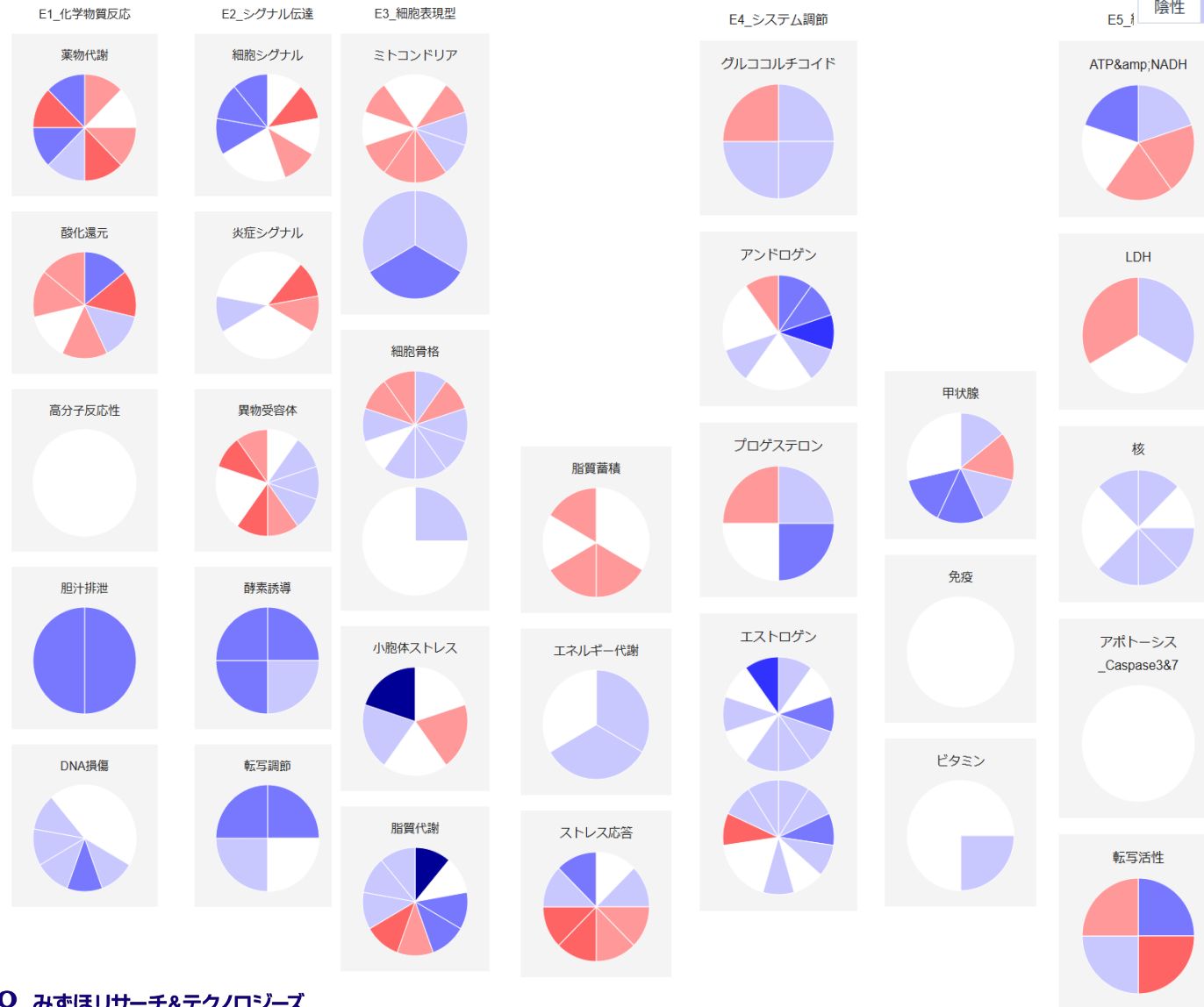
単回投与



28日間反復投与



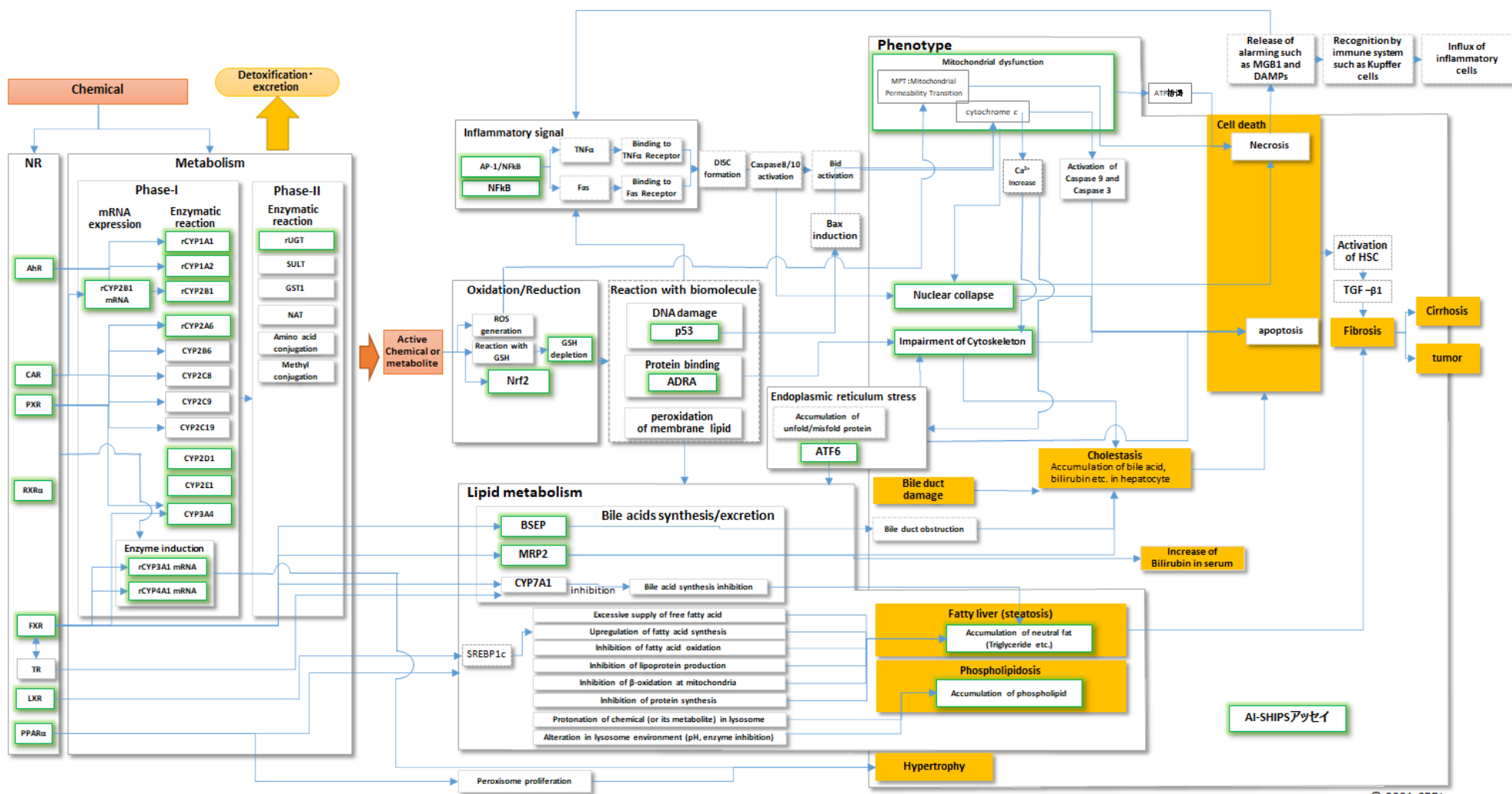
■ 事例1 : butyl N-[(butylsulfanyl)methanethioyl]carbamate (1001320-38-2)

● *in vitro*予測結果 (信頼性スコア0.2以上をフィルタリング表示)

3 将来の行政利用に向けた検討・対応.

3.3 結果と試験結果の比較・考察

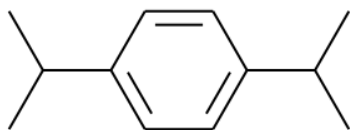
■ 参考（肝毒性のAOPとAI-SHIPS *in vitro*試験実施イベントの対応関係）



3 将来の行政利用に向けた検討・対応.

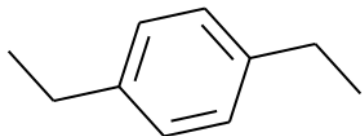
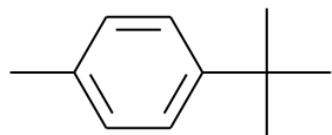
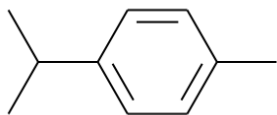
3.3 結果と試験結果の比較・考察

■ 事例2 : 1,4-bis(propan-2-yl)benzene (100-18-5)



- 試験 : OECD Guideline 407, GLP (100, 1000 mg/kg/day)
- 所見 : 毒性なし

● 学習データにおける類似物質



陽性であるが信頼性スコア
が低い (判断できない)

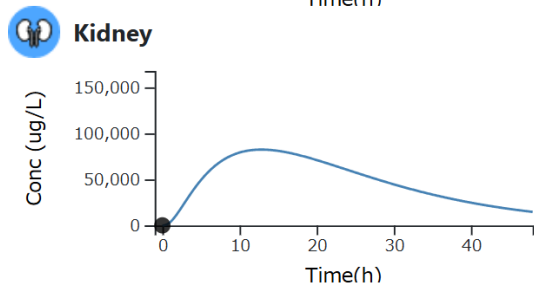
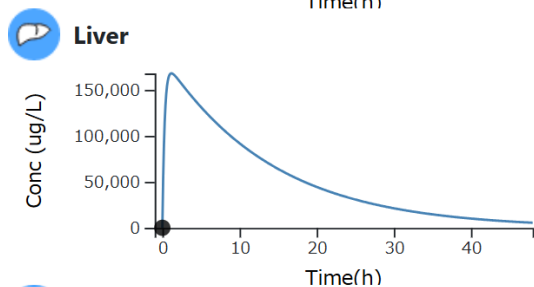
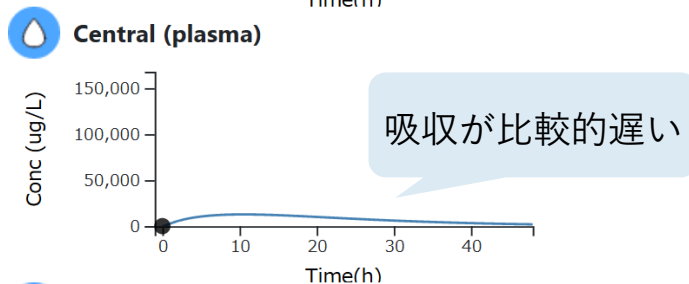
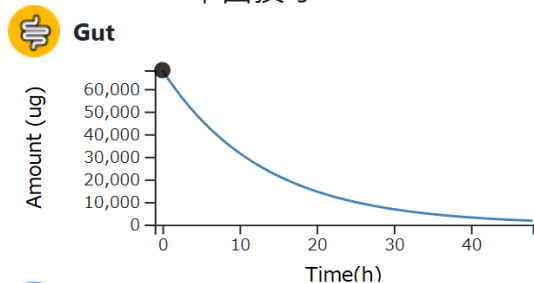
判定の逆転が起こる結果につ
いては判断できない

		モデル		100-18-5	信頼スコアの閾値
肝毒性	細胞傷害・炎症	NOEL ≤ 30	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.67	0.37
		NOEL ≤ 300	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.16	0.33
	肝機能低下	NOEL ≤ 30	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.26	0.37
		NOEL ≤ 300	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.02	0.29
	肝機能亢進	NOEL ≤ 30	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.03	0.049
		NOEL ≤ 300	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.16	0.37
腎毒性	胆管障害	NOEL ≤ 30	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.09	0.224
		NOEL ≤ 300	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.62	0.39
	肥大	NOEL ≤ 30	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.12	0.119
		NOEL ≤ 300	予測結果	陽性	
			信頼性スコア	0.10	0.35
	脂質代謝異常	NOEL ≤ 30	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.26	0.247
		NOEL ≤ 300	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.26	0.39
血液毒性	腎障害	NOEL ≤ 30	予測結果	陽性	
			信頼性スコア	0.14	0.078
		NOEL ≤ 300	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.25	0.36
	凝固障害	NOEL ≤ 30	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.27	0.243
		NOEL ≤ 300	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.38	0.09
	貧血	NOEL ≤ 30	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.74	0.396
		NOEL ≤ 300	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.46	0.4

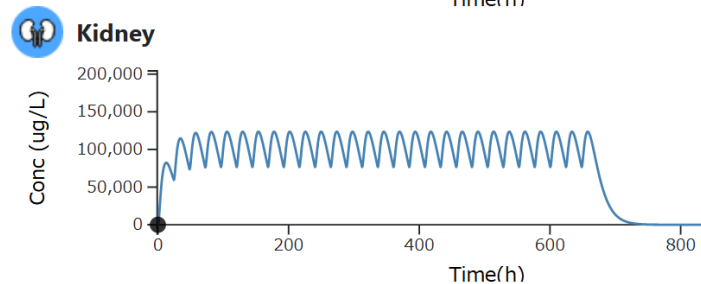
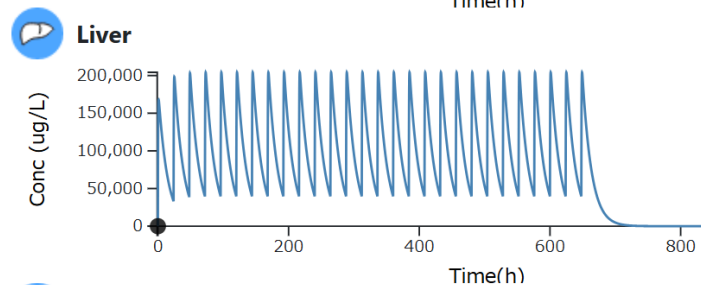
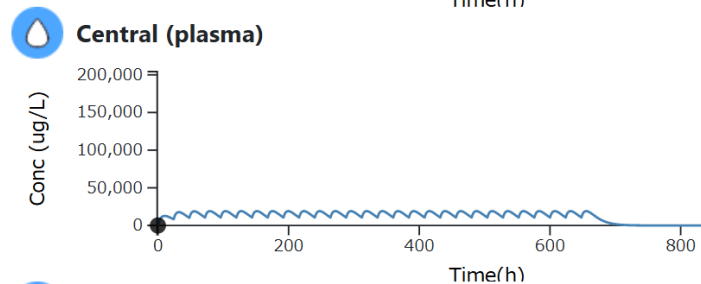
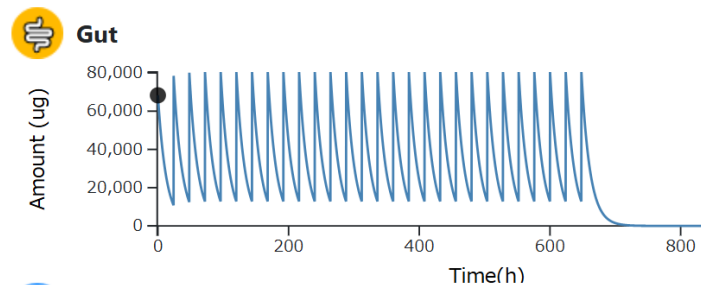
■ 事例2 : 1,4-bis(propan-2-yl)benzene (100-18-5)

- 体内動態に関する予測結果 (投与量 300 mg/kg)

単回投与



28日間反復投与

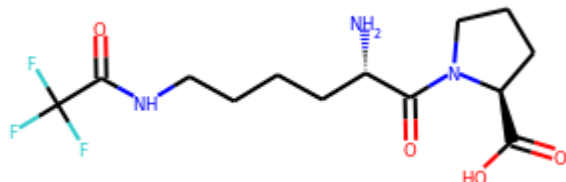


3 将来の行政利用に向けた検討・対応.

3.3 結果と試験結果の比較・考察

■ 事例3 : (2S)-1-[(2R)-2-amino-6-(2,2,2-trifluoroacetamido)hexanoyl]pyrrolidine-2-carboxylic acid (103300-89-6)

● REACHにおける毒性所見



- 試験：OECD Guideline 407, GLP (215, 1000 mg/kg/day)
- 所見：毒性なし

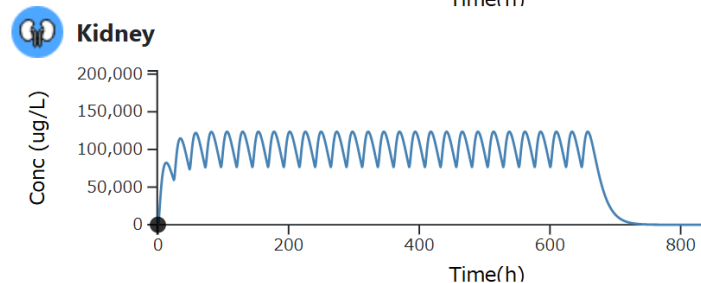
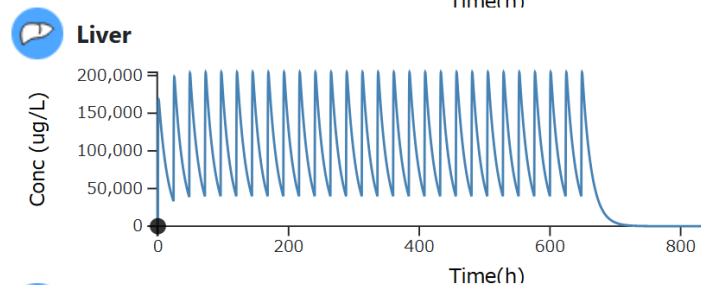
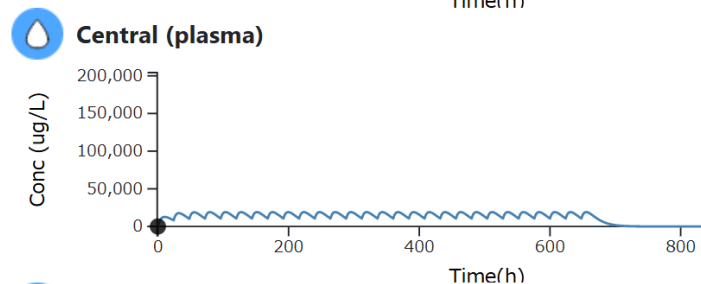
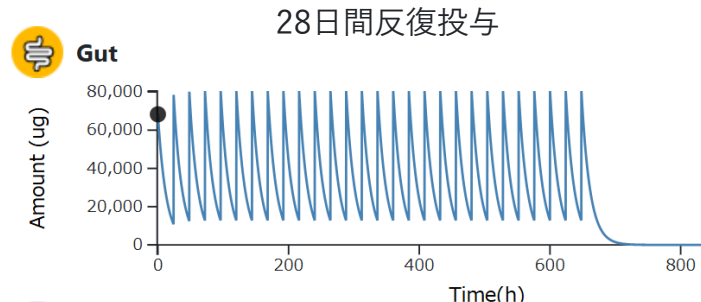
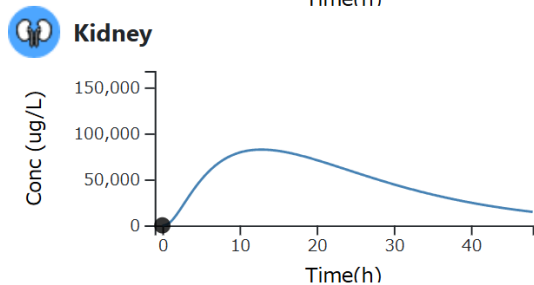
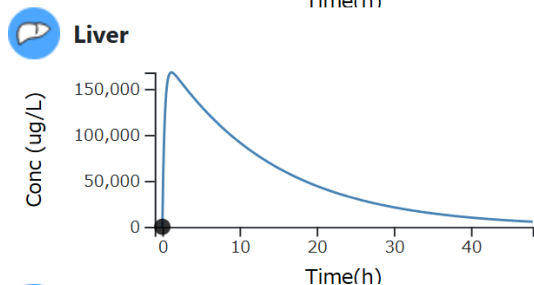
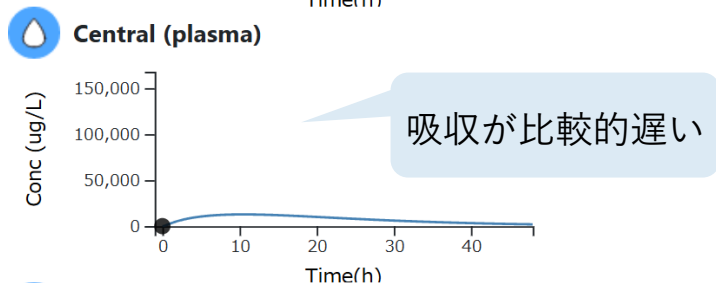
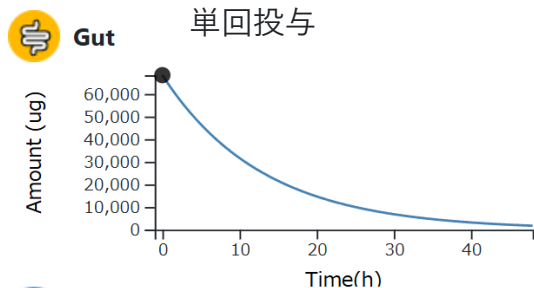
陽性であるが信頼性スコア
が低い（判断できない）

判定の逆転が起こる結果につ
いては判断できない

		モデル		103300-89-6	信頼スコアの閾値	
肝毒性	細胞傷害・炎症	NOEL ≦ 30	予測結果	陰性		
			信頼性スコア	0.22	0.37	
		NOEL ≦ 300	予測結果	陰性		
			信頼性スコア	0.45	0.33	
	肝機能低下	NOEL ≦ 30	予測結果	陰性		
			信頼性スコア	0.23	0.37	
		NOEL ≦ 300	予測結果	陰性		
			信頼性スコア	0.34	0.29	
	肝機能亢進	NOEL ≦ 30	予測結果	陽性		
			信頼性スコア	0.07	0.049	
		NOEL ≦ 300	予測結果	陰性		
			信頼性スコア	0.22	0.37	
	胆管障害	NOEL ≦ 30	予測結果	陽性		
			信頼性スコア	0.06	0.224	
		NOEL ≦ 300	予測結果	陰性		
			信頼性スコア	0.83	0.39	
		肥大	NOEL ≦ 30	予測結果	陰性	
				信頼性スコア	0.30	0.119
	NOEL ≦ 300		予測結果	陰性		
			信頼性スコア	0.55	0.35	
	脂質代謝異常	NOEL ≦ 30	予測結果	陰性		
			信頼性スコア	0.26	0.247	
		NOEL ≦ 300	予測結果	陰性		
			信頼性スコア	0.26	0.39	
	腎毒性	腎障害	NOEL ≦ 30	予測結果	陽性	
				信頼性スコア	0.32	0.078
NOEL ≦ 300			予測結果	陰性		
			信頼性スコア	0.65	0.36	
血液毒性		凝固障害	NOEL ≦ 30	予測結果	陰性	
				信頼性スコア	0.24	0.243
			NOEL ≦ 300	予測結果	陰性	
				信頼性スコア	0.56	0.09
	貧血	NOEL ≦ 30	予測結果	陰性		
			信頼性スコア	0.39	0.396	
		NOEL ≦ 300	予測結果	陰性		
			信頼性スコア	0.70	0.4	

■ 事例3 : (2S)-1-[(2R)-2-amino-6-(2,2,2-trifluoroacetamido)hexanoyl]pyrrolidine-2-carboxylic acid (103300-89-6)

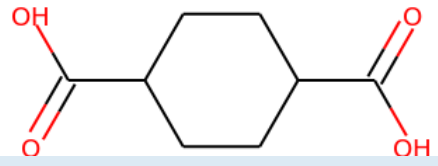
- 体内動態に関する予測結果 (投与量 300 mg/kg)



3 将来の行政利用に向けた検討・対応.
3.3 結果と試験結果の比較・考察

■ 事例4 : cyclohexane-1,4-dicarboxylic acid (1076-97-7)

● REACHにおける毒性所見



- 試験 : OECD Guideline 407, GLP
- 用量 : 0.1%, 0.3%, 1.0% (871♂、894♀ mg/kg bw/day)
- 所見 : 毒性なし

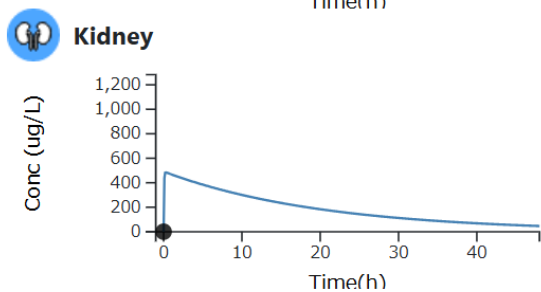
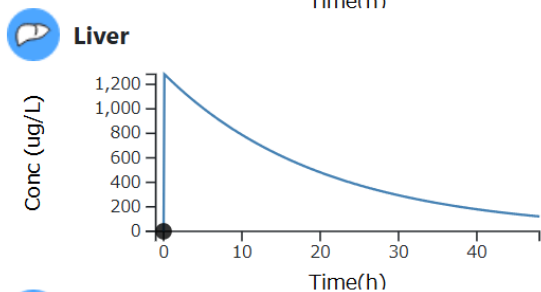
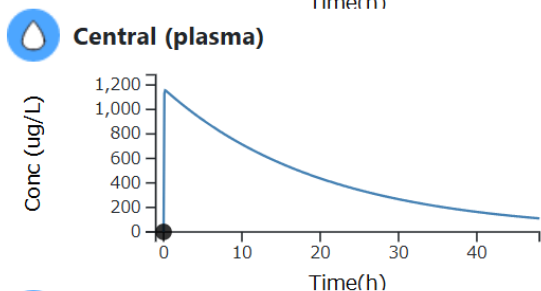
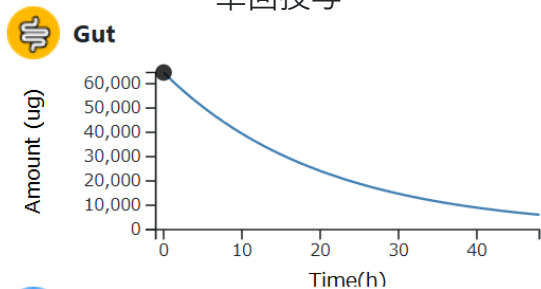
陰性かつ信頼性スコアが高いため、
本物質はAI-SHIPSの予測の信頼性が
高い領域の物質であると言える。

		モデル		1076-97-7	信頼スコアの閾値
肝毒性	細胞傷害・炎症	NOEL ≤ 30	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.83	0.37
		NOEL ≤ 300	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.68	0.33
	肝機能低下	NOEL ≤ 30	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.20	0.37
		NOEL ≤ 300	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.45	0.29
	肝機能亢進	NOEL ≤ 30	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.22	0.049
		NOEL ≤ 300	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.86	0.37
	胆管障害	NOEL ≤ 30	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.04	0.224
		NOEL ≤ 300	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.84	0.39
腎毒性	肥大	NOEL ≤ 30	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.47	0.119
		NOEL ≤ 300	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.63	0.35
	脂質代謝異常	NOEL ≤ 30	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.38	0.247
		NOEL ≤ 300	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.24	0.39
	腎障害	NOEL ≤ 30	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.02	0.078
		NOEL ≤ 300	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.86	0.36
血液毒性	凝固障害	NOEL ≤ 30	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.28	0.243
		NOEL ≤ 300	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.79	0.09
	貧血	NOEL ≤ 30	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.76	0.396
		NOEL ≤ 300	予測結果	陰性	

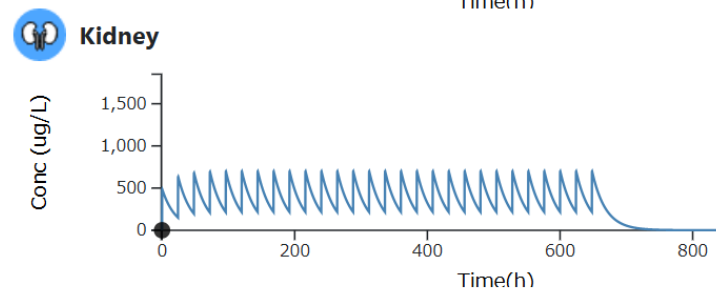
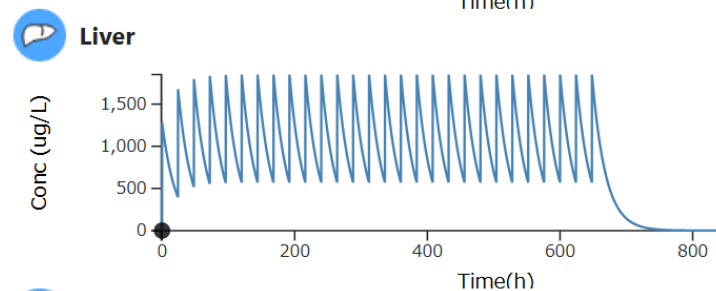
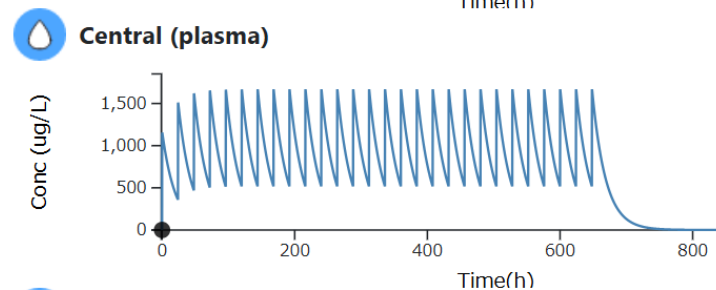
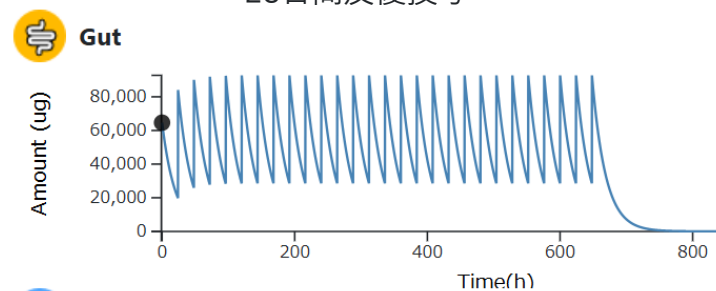
■ 事例4 : cyclohexane-1,4-dicarboxylic acid (1076-97-7)

- 体内動態に関する予測結果 (投与量 300 mg/kg)

単回投与



28日間反復投与

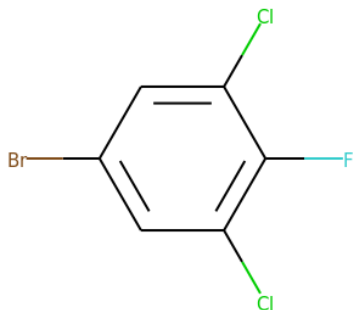


3 将来の行政利用に向けた検討・対応.

3.3 結果と試験結果の比較・考察

■ 事例5 : 5-bromo-1,3-dichloro-2-fluorobenzene (17318-08-0)

● REACHにおける毒性所見

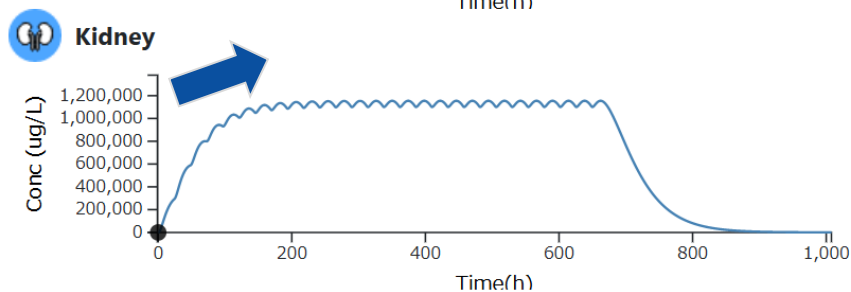
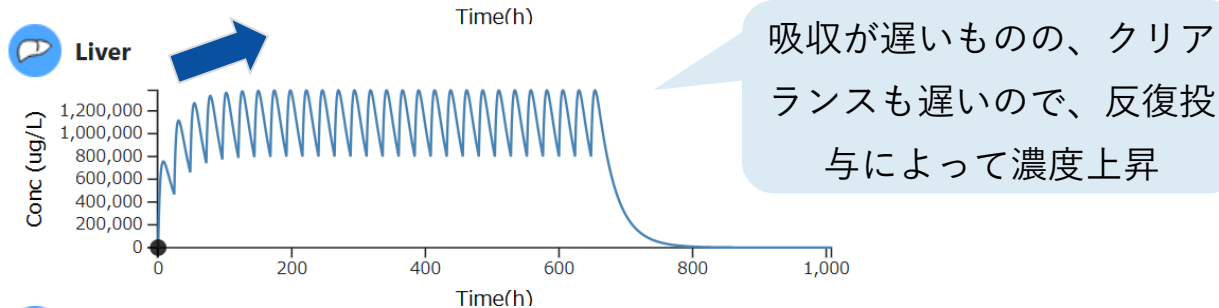
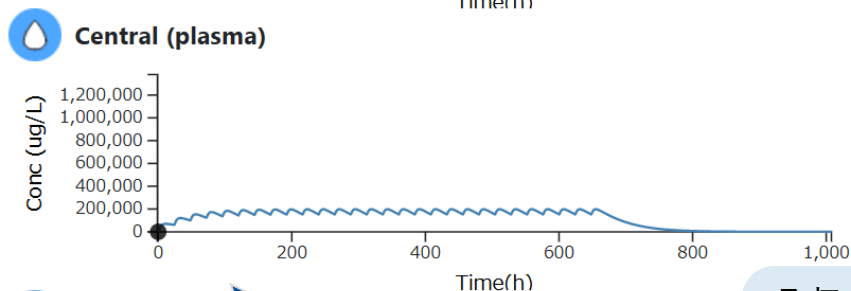
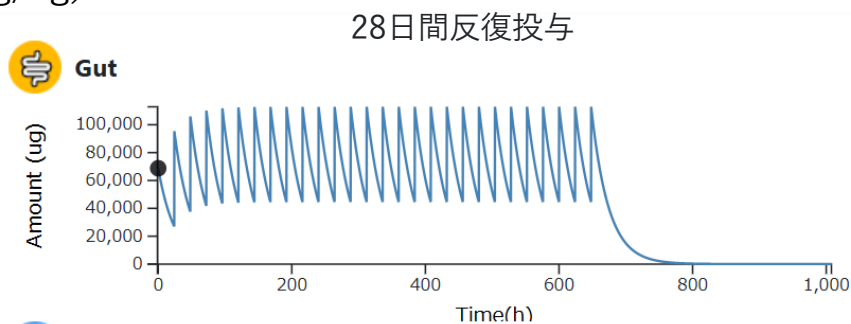
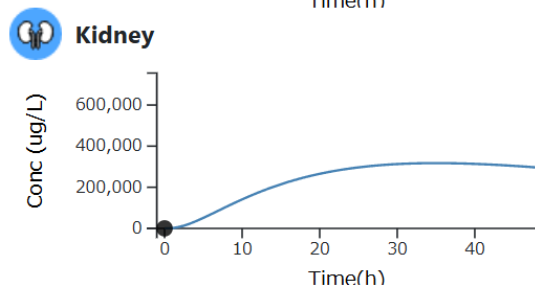
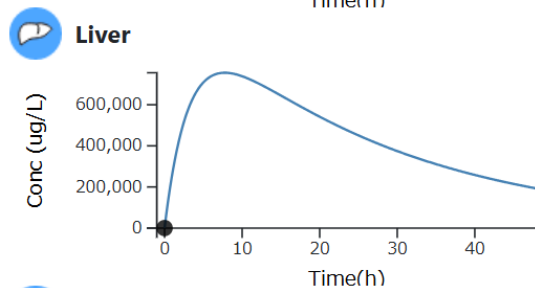
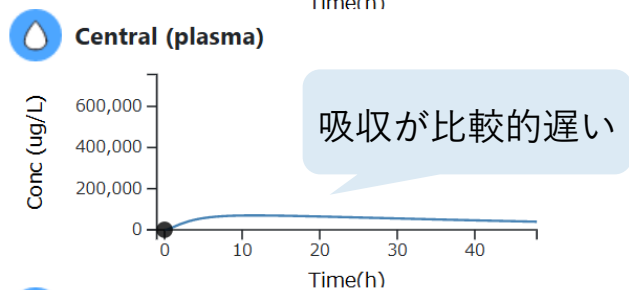
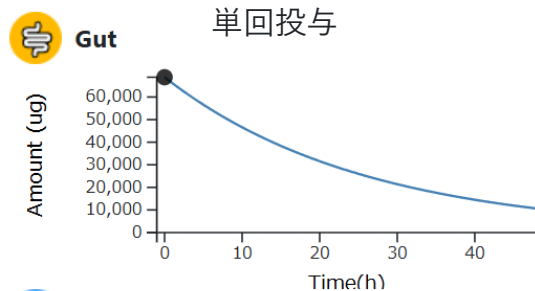


- 試験：OECD Guideline 422, GLP (30, 150, 300 mg/kg/day)
- 所見：
 - 30 mg/kg/day以上：肝重量増加、小葉中心性肝細胞肥大
 - 150 mg/kg/day以上：TG↑、コレステロール値↑
 - 300 mg/kg/day：ALT↑、Bil↑、γGTP↑、肝細胞の壊死・空胞化 (AI-SHIPS以外の所見として、体重増加抑制、歯、甲状腺、前胃)

		モデル		17318-08-0	信頼スコアの閾値
肝毒性	細胞傷害・炎症	NOEL ≦ 30	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.45	0.37
		NOEL ≦ 300	予測結果	陽性	
			信頼性スコア	0.32	0.33
	肝機能低下	NOEL ≦ 30	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.09	0.37
		NOEL ≦ 300	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.05	0.29
	肝機能亢進	NOEL ≦ 30	予測結果	陽性	
			信頼性スコア	0.17	0.049
		NOEL ≦ 300	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.54	0.37
	胆管障害	NOEL ≦ 30	予測結果	陽性	
			信頼性スコア	0.31	0.224
		NOEL ≦ 300	予測結果	陽性	
			信頼性スコア	0.17	0.39
	肥大	NOEL ≦ 30	予測結果	陽性	
			信頼性スコア	0.10	0.119
		NOEL ≦ 300	予測結果	陽性	
			信頼性スコア	0.07	0.35
	脂質代謝異常	NOEL ≦ 30	予測結果	陽性	
			信頼性スコア	0.03	0.247
		NOEL ≦ 300	予測結果	陽性	
			信頼性スコア	0.42	0.39
腎毒性	腎障害	NOEL ≦ 30	予測結果	陽性	
			信頼性スコア	0.43	0.078
		NOEL ≦ 300	予測結果	陽性	
			信頼性スコア	0.16	0.36
血液毒性	凝固障害	NOEL ≦ 30	予測結果	陽性	
			信頼性スコア	0.14	0.243
		NOEL ≦ 300	予測結果	陽性	
			信頼性スコア	0.07	0.09
	貧血	NOEL ≦ 30	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.35	0.396
		NOEL ≦ 300	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.16	0.4

■ 事例5：5-bromo-1,3-dichloro-2-fluorobenzene (17318-08-0)

- 体内動態に関する予測結果（投与量 300 mg/kg）

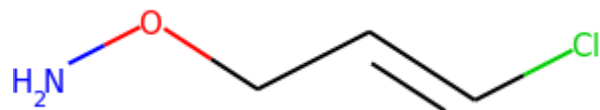


3 将来の行政利用に向けた検討・対応.

3.3 結果と試験結果の比較・考察

■ 事例6：O－（3－クロロ－（E）－アリル）ヒドロキシルアミン（87851-77-2）

● 化審法新規審査シートにおける毒性所見

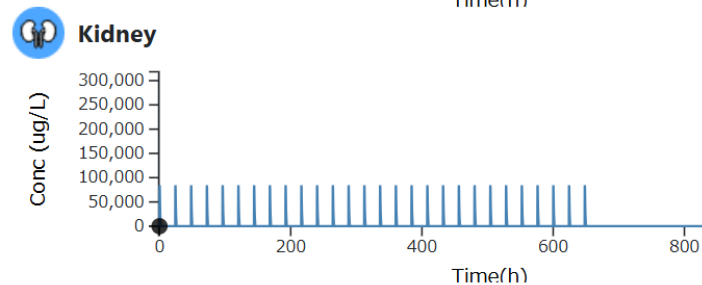
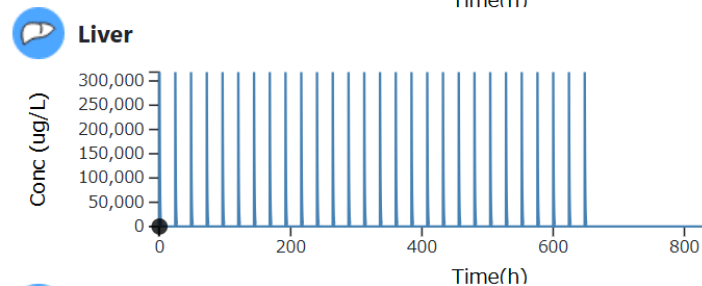
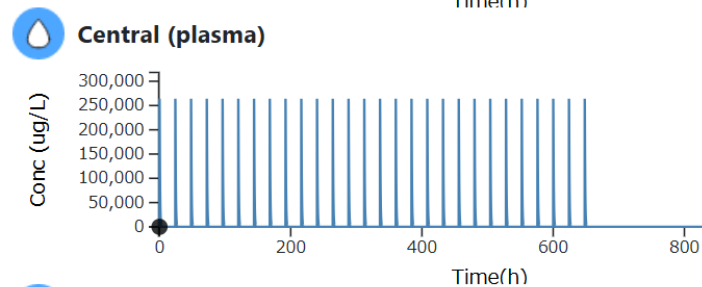
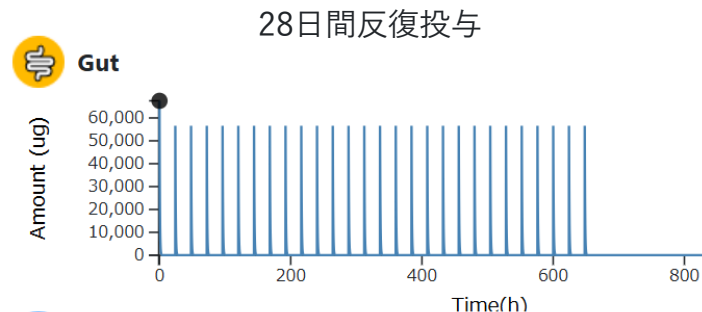
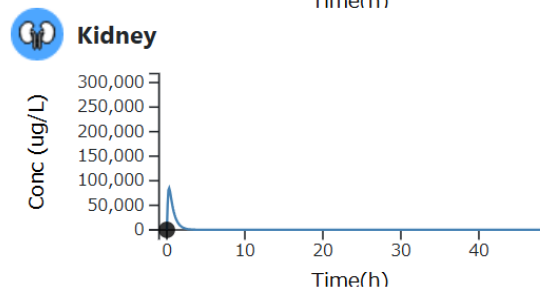
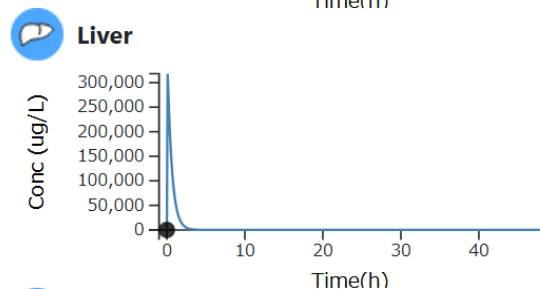
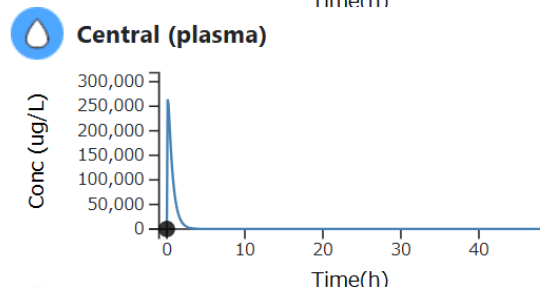
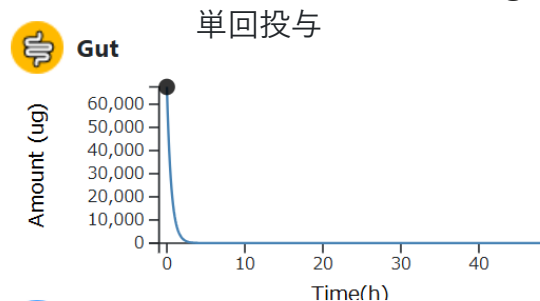


- 試験：28日間反復投与（用量設定：1, 5, 10, 50 mg/kg/day）
- 推定根拠
血液学的検査(Ret↑：5以上♀・10以上♂)
- 他の毒性
体重↓：50♂
血液学的検査(Hgb↓・Hct↓：10以上♂・50♀、RBC↓・WBC↑：50♂♀、Plt↑・Seg↓・Lympho↑：50♀)
血液生化学的検査(Cho↑：10以上♀、γ-GPT↑・Alb↑・A/G↑・K↑：50♂♀、GPT↑・TP↑：50♀、Pi↑：50♂)
絶対重量(肝↑：50♀、脾↑：10以上♂♀)
相対重量(肝↑：50♂♀、脾↑：10以上♂♀、腎↑：10以上♂♀)
組織学的所見(脾－髄外造血：10以上♂♀、脾－うっ血・ヘモジリン沈着：50♂♀、肝－髄外造血：50♂♀)
- 回復性
RBC↓・Ret↑・WBC↑、A/G↑、絶対重量(脾↑)、
相対重量(肝↑・脾↑・腎↑)

		モデル		87851-77-2	信頼スコアの閾値
肝毒性	細胞傷害・炎症	NOEL ≤ 30	予測結果	陽性	
			信頼性スコア	0.18	0.37
		NOEL ≤ 300	予測結果	陽性	
			信頼性スコア	0.11	0.33
	肝機能低下	NOEL ≤ 30	予測結果	陽性	
			信頼性スコア	0.01	0.37
		NOEL ≤ 300	予測結果	陽性	
			信頼性スコア	0.70	0.29
	肝機能亢進	NOEL ≤ 30	予測結果	陽性	
			信頼性スコア	0.28	0.049
		NOEL ≤ 300	予測結果	陽性	
			信頼性スコア	0.14	0.37
腎毒性	胆管障害	NOEL ≤ 30	予測結果	陽性	
			信頼性スコア	0.03	0.224
		NOEL ≤ 300	予測結果	陽性	
			信頼性スコア	0.35	0.39
	肥大	NOEL ≤ 30	予測結果	陽性	
			信頼性スコア	0.01	0.119
		NOEL ≤ 300	予測結果	陽性	
			信頼性スコア	0.08	0.35
	脂質代謝異常	NOEL ≤ 30	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.09	0.247
		NOEL ≤ 300	予測結果	陽性	
			信頼性スコア	0.62	0.39
血液毒性	腎障害	NOEL ≤ 30	予測結果	陽性	
			信頼性スコア	0.30	0.078
		NOEL ≤ 300	予測結果	陽性	
			信頼性スコア	0.02	0.36
	凝固障害	NOEL ≤ 30	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.15	0.243
		NOEL ≤ 300	予測結果	陽性	
			信頼性スコア	0.23	0.09
	貧血	NOEL ≤ 30	予測結果	陰性	
			信頼性スコア	0.18	0.396
		NOEL ≤ 300	予測結果	陽性	
			信頼性スコア	0.19	0.4

■ 事例6：O-（3-クロロ-（E）-アリル）ヒドロキシルアミン（87851-77-2）

- 体内動態に関する予測結果（投与量 300 mg/kg）



I まとめ

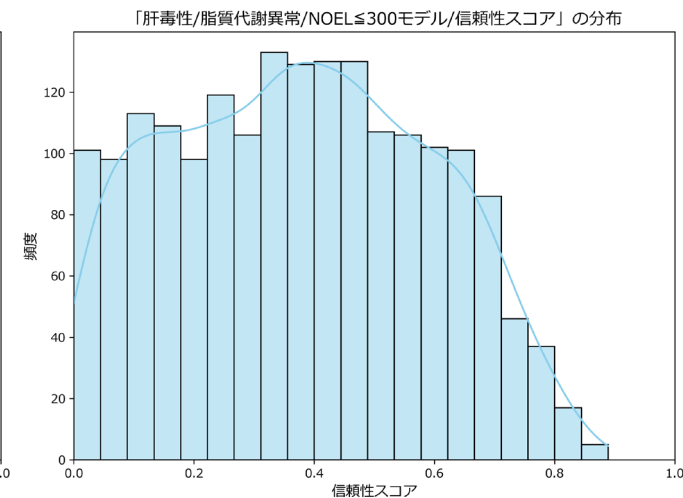
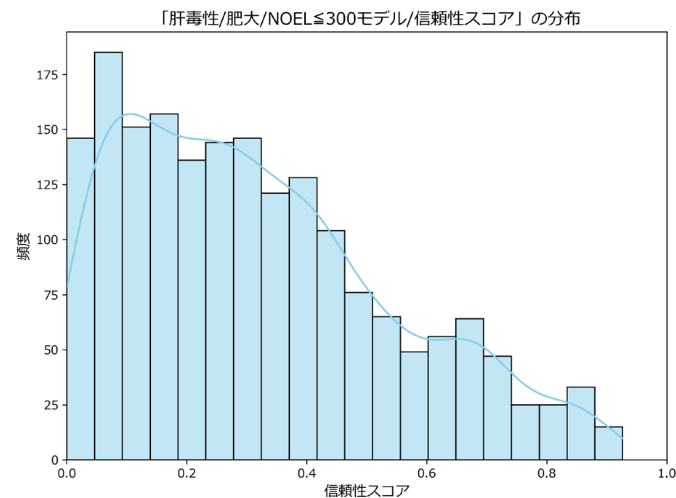
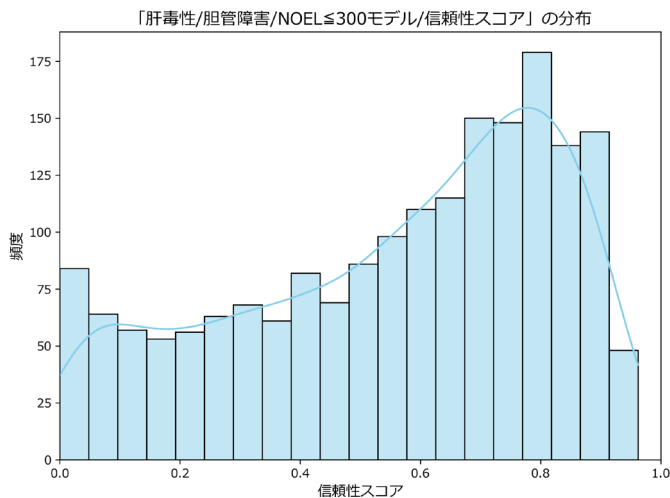
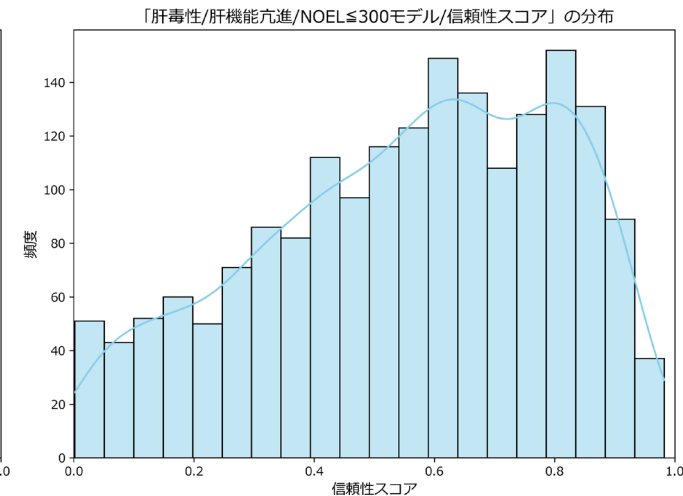
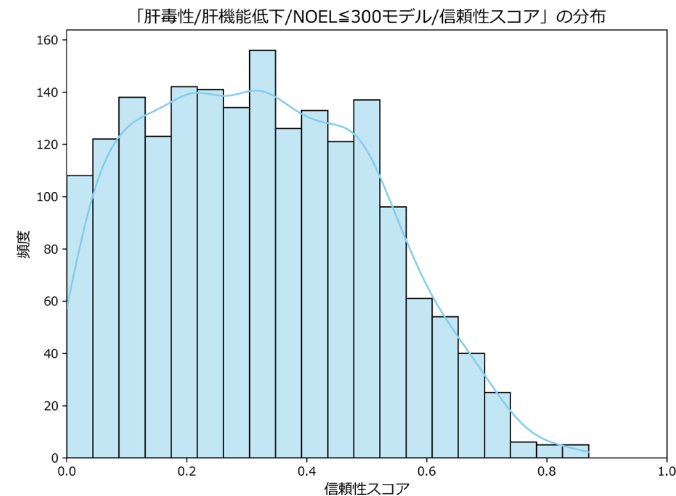
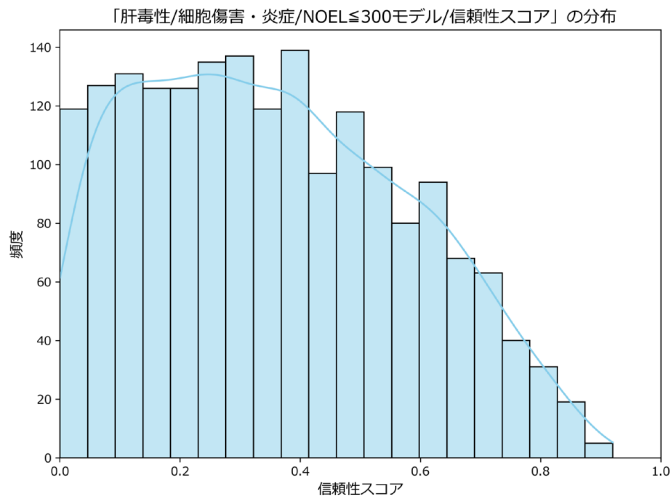
- 学習データ以外で、毒性情報を有する物質（REACH、化審法審査シート等）から選択した6事例について、体内動態および*in vivo*毒性予測結果の解釈の例を示した。
 - AI-SHIPSで毒性予測結果を解釈するために、体内動態モデルと毒性予測モデルを組み合わせることで総合的に判断をすることが有用である。
 - 予測対象がケミカルスペースの図において、AI-SHIPSの学習データの近傍領域に入ることを確認した上で、信頼性スコアをもとに*in vivo*毒性予測結果を判断する必要がある。
 - *In vivo*毒性予測モデル毎に、感度・特異度が異なるため、予測結果についてモデルの感度・特異度を踏まえて、*in vivo*毒性予測結果を考察する必要がある。（→事例1）

※感度、特異度ならびにADの閾値を示す信頼性スコアの情報は、システムには表示されていないため、別途情報（システム説明書、QMRFなど）を参照する必要がある。
 - 多様な*in vitro*試験についての予測結果も表示されるため、それらの反応性等をみて毒性発現のメカニズムを考察することが可能である。（→事例1）
- 毒性予測において本来は代謝を考慮すべきである。代謝物での毒性が想定される物質については、代謝シミュレーターで別途代謝物を予測して、それをAI-SHIPSにて毒性、動態を予測し、総合的に考察することも有用である。

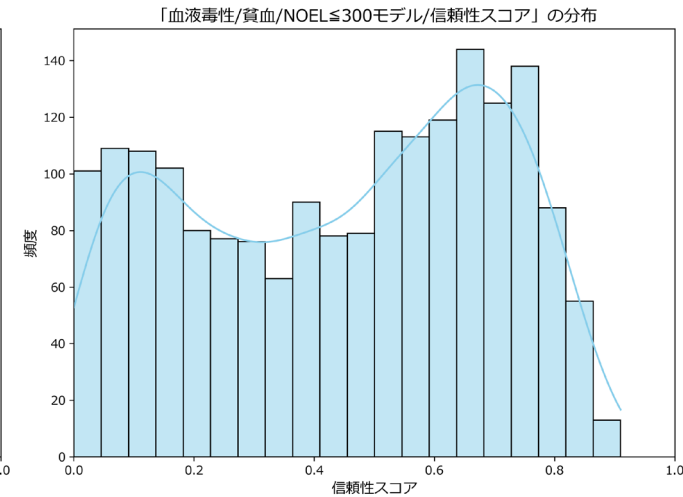
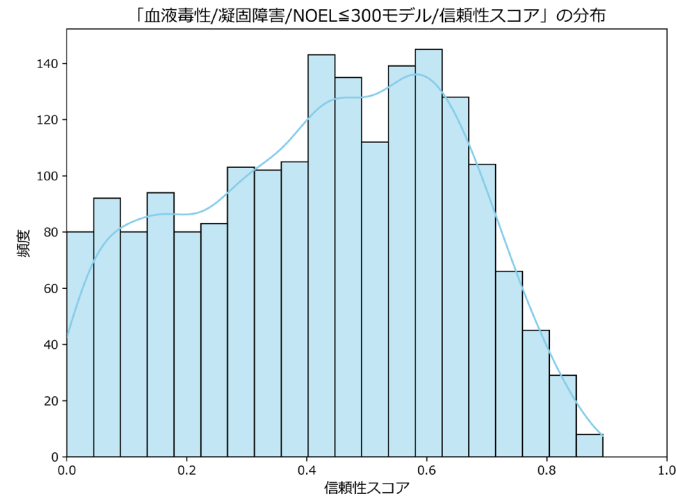
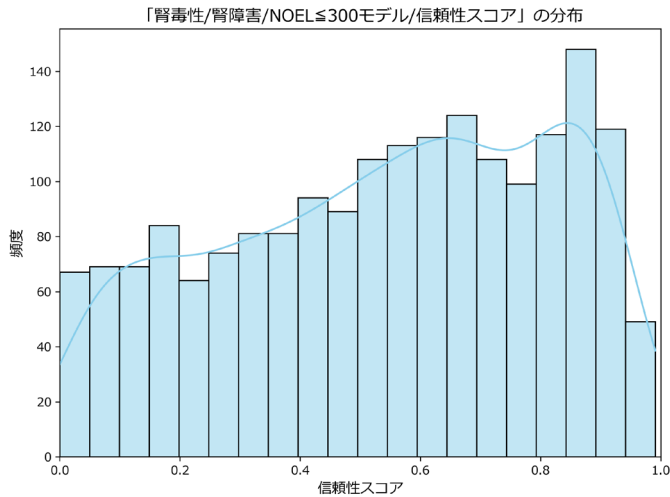
3.4 将来の行政利用に向けた活用方法の提案

- 行政利用にあたっては、その活用場面によって、求められる精度が異なる。
- そこで、AI-SHIPSの推定結果について、予測結果における信頼性スコアの分布について分析を行い、より正確に予測が可能な構造等について考察を行った。
- AI-SHIPS学習データ及び計527物質のケーススタディ候補物質について以下の手順で正確に予測が可能な構造等を抽出した。
 - ① AI-SHIPS学習データについて、各予測モデルにおける信頼性スコアの分布を作成した。信頼性スコアの分布は予測モデルによって異なる。
 - ② AI-SHIPS学習データについて、スクリーニングへの活用の観点からNOEL 300モデルの各予測モデル（肝臓、腎臓、血液）における信頼性スコアの平均値を物質毎に算出
 - ③ 信頼性スコアの平均値が0.6以上※¹の物質を抽出
 - ※ 1 予測対象物質の信頼性スコアが各予測モデルの信頼性スコアの閾値を超える確率が95%以上
 - ④ Morganフィンガープリント※²-Tanimoto類似度※³の情報を用いて、全体の物質を階層的クラスタリング（似たもの同士をまとめるグループ分けの方法）により、まず10個のクラスター（グループ）に分け、さらに各クラスター内の物質数が30以上の場合、その中でさらにクラスタリングを行った
 - ※² 化学構造を数値やビット列に変換して、分子の特徴を表現する手法
 - ※³ 2つの分子のMorganフィンガープリントを用いて、どれだけ似ているかを数値化する方法（値は0～1の間で、1に近いほど類似していることを示す。）
 - ⑤ 計527物質のケーススタディ候補物質について、④において作成したクラスターに含まれる物質との平均類似度が0.5以上の場合、作成済のクラスターに割り当てを行った。
 - ⑥ 各クラスターにおいて、類似する構造が得られたグループの構造例を示した。

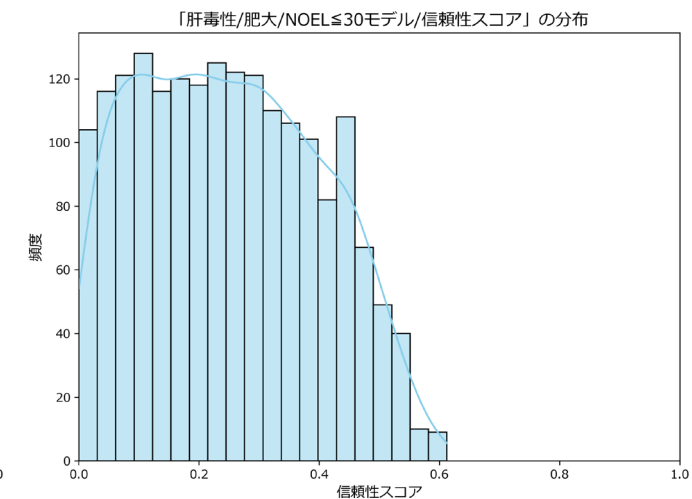
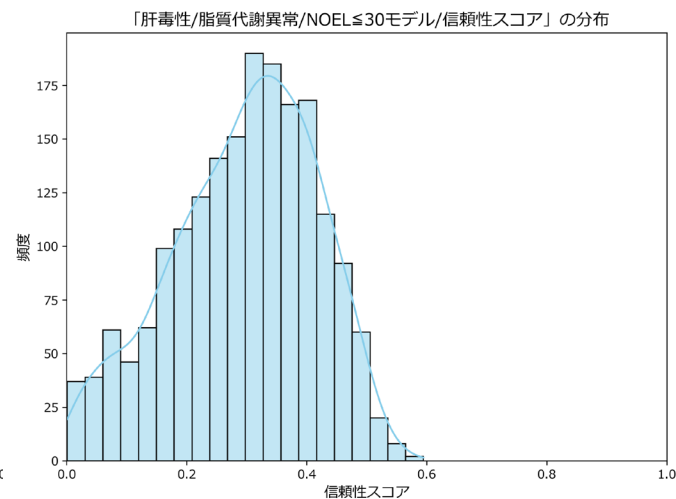
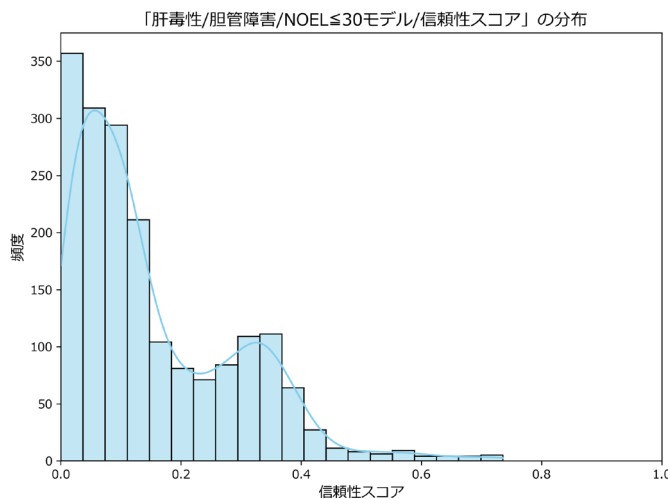
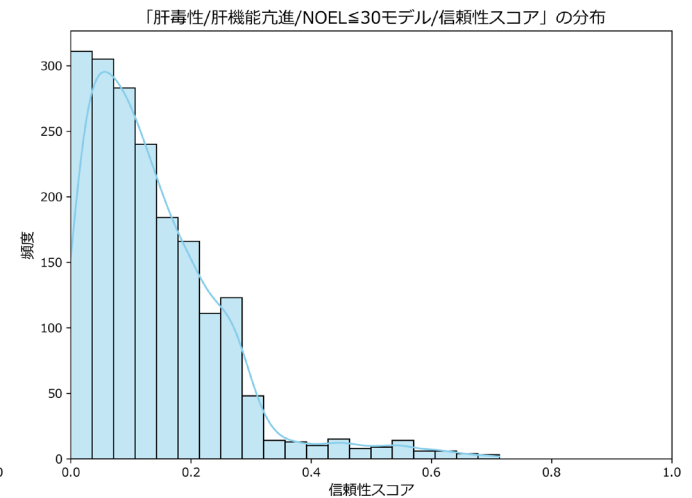
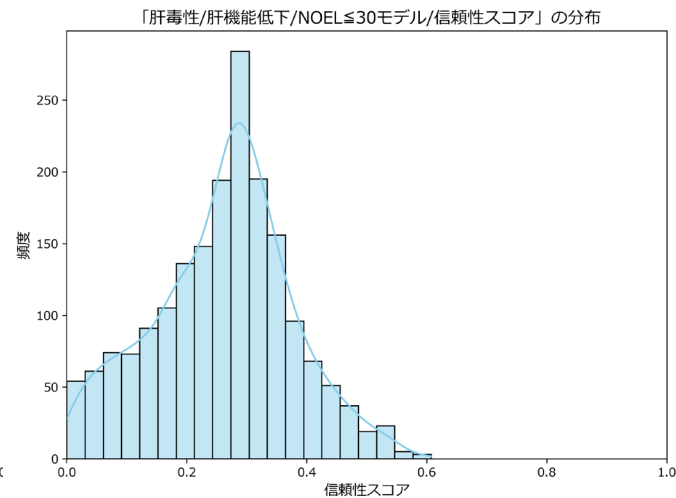
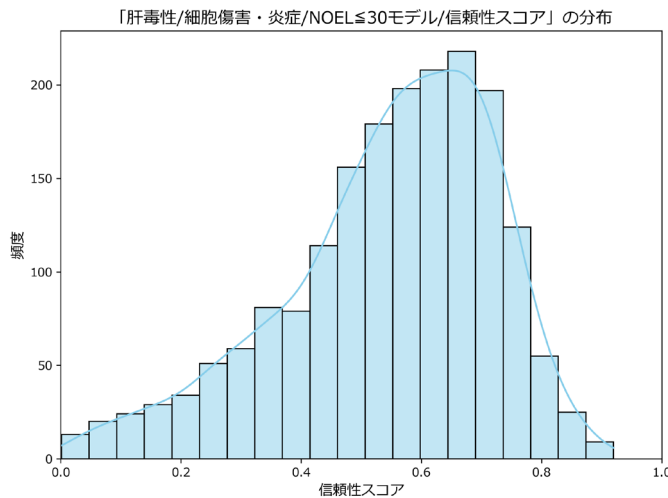
信頼性スコアの分布（NOEL≤300モデル）



信頼性スコアの分布 (NOEL≤300モデル)



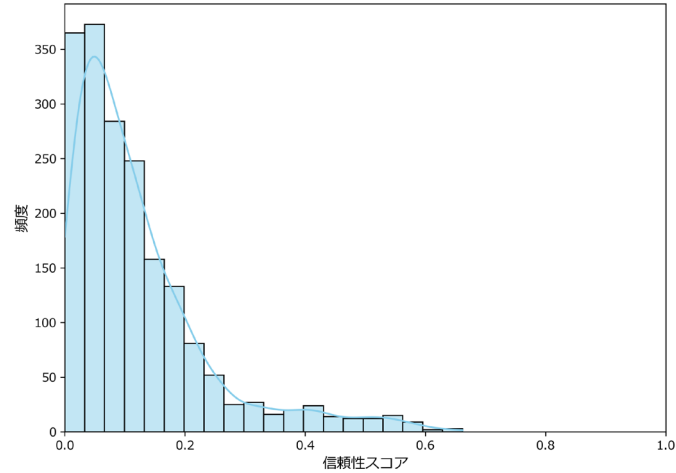
信頼性スコアの分布 (NOEL≤30モデル)



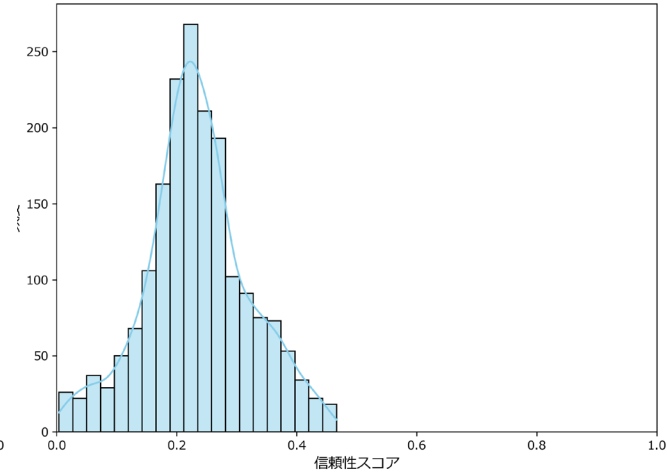
3.4 将来の行政利用に向けた活用方法の提案

■ 信頼性スコアの分布 (NOEL $\leq$ 30モデル)

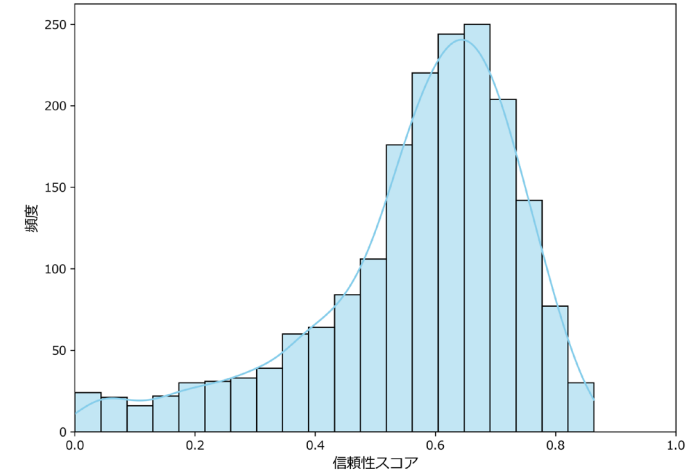
「腎毒性/腎障害/NOEL $\leq$ 30モデル/信頼性スコア」の分布



「血液毒性/凝固障害/NOEL $\leq$ 30モデル/信頼性スコア」の分布

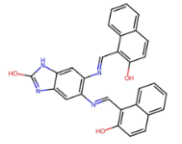
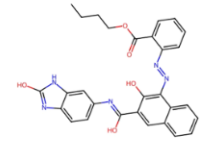
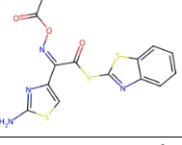
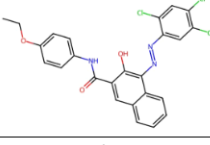
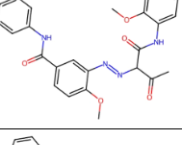
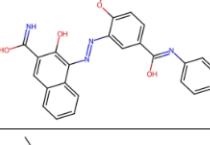
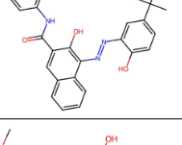
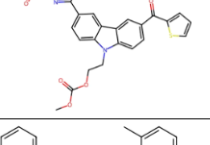
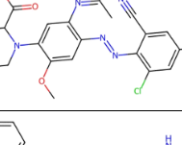
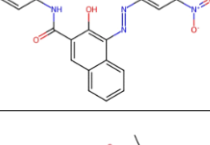
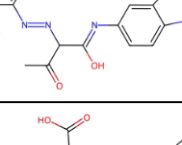
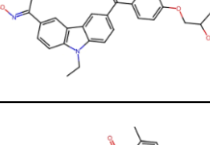
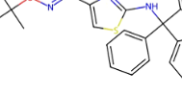
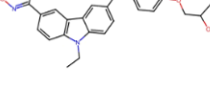


「血液毒性/貧血/NOEL $\leq$ 30モデル/信頼性スコア」の分布



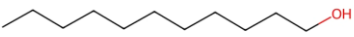
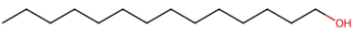
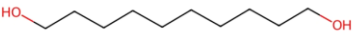
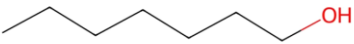
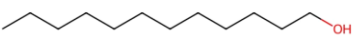
■ クラスターの具体例 (その1)

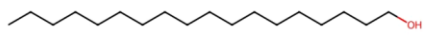
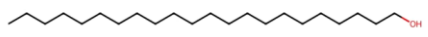
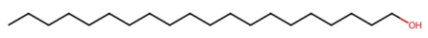
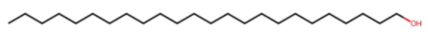
- 作成したクラスターの具体例は以下のとおり。以下のクラスターは信頼性スコアが比較的高く、当該クラスターに属する毒性未知の物質については、より正確に予測が可能な構造と考えられる。

SMILES	信頼性スコア (平均値)		SMILES	信頼性スコア (平均値)	
<chem>Oc1nc2cc(/N=C/c3c(O)ccc4cccc34)c(/N=C/c3c(O)ccc4cccc34)cc2[nH]1</chem>	0.7443083		<chem>CCCCOC(=O)c1ccccc1N=Nc2c(O)c(cc3ccccc23)Nc4ccc5nc(O)[nH]c5c4)O</chem>	0.792823452	
<chem>CC(=O)O/N=C(NC(=O)Sc1nc2ccccc2s1)c1csc(N)n1</chem>	0.649038143		<chem>CCOc1ccc(NC(=O)c2cc3ccccc3c(N=Nc4cc(Cl)c(Cl)cc4Cl)c2O)cc1</chem>	0.796079939	
<chem>COCc1ccc(C(=O)Nc2ccccc2)cc1N=NC(C(C)=O)C(=O)Nc1ccccc1OC</chem>	0.718998915		<chem>COCc1ccc(cc1N=Nc2c(O)c(cc3ccccc23)C(=N)O)Nc4ccccc4)O</chem>	0.732372231	
<chem>CC(C)(C)c1ccc(O)c(N=Nc2c(O)c(C(=O)Nc3ccccc3)cc3ccccc23)c1</chem>	0.713095185		<chem>COC(=O)OCCN1c2ccc(C(=O)c3ccccc3)cc2c2cc(C(C)=NOC(C)=O)ccc21</chem>	0.726535141	
<chem>COC(=O)CN(C(C)C(=O)OC)c1cc(NC(=O)C)O)c(cc1OC)Nc2c(Cl)cc(cc2C#N)N(=O)=O</chem>	0.647849336		<chem>O=C(c1cc2ccccc2c(c1O)/N=N/c1cc(ccc1C)[N+](=O)[O-])Nc1ccccc1</chem>	0.760504858	
<chem>CC(=O)C(N=Nc1ccccc1C(F)(F)F)Nc2ccccc2c3nc(O)[nH]c3c2)O</chem>	0.686563009		<chem>CC(=O)OCCN(c1ccc(c(c1)NC(=O)c1ccccc1)/N=N/c1nc2c(s1)cc(cc2Cl)CCOC(=O)C</chem>	0.693246122	
<chem>CC(C)(C)OC(=O)C(C)(C)O=Nc1c(C(=O)O)Nc1cs c(NC(c2ccccc2)(c3ccccc3)c4ccccc4)n1</chem>	0.794650188		<chem>CCN1c2ccc(cc2c2c1ccc(c2)/C(=N/OC(=O)C)/C(C(=O)c1ccc(cc1C)OCC1COC(O1)(C)C</chem>	0.63199039	

3.4 将来の行政利用に向けた活用方法の提案

I クラスターの具体例（その2）

SMILES	信頼性スコア (平均値)	
OCCCCCO	0.628080853	
CCCCCCCCCO	0.680525747	
CCCCCCCCCCCCCO	0.637041533	
OCCCCCCCCCO	0.683439594	
CCCCCCCO	0.653772965	
CCCCCCCCCCCCO	0.656348228	

SMILES	信頼性スコア (平均値)	
CCCCCCCCCCCCCCCCCO	0.675223	
CCCCCCCCCCCCCCCCCO	0.725478572	
CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCO	0.484312459	
CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCO	0.531109828	
CCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC	0.473425915	

3 将来の行政利用に向けた検討・対応.

3.4 将来の行政利用に向けた活用方法の提案

- 前述のとおり、信頼性スコアの高い領域で、特徴的な構造をもつグループが存在する。
- 従って、当該構造グループに属する毒性未知の物質（かつ信頼性スコアが高い物質）については、その結果を一定程度活用できる可能性がある。
- 化審法において、毒性予測が活用できる可能性がある場面は下記のとおり。
- この中で、特に「デフォルト有害性クラスを付与し、優先評価化学物質に指定する優先順位付け等」については、当該結果をもって化学物質のリスク評価や行政判断を行うものではないということから、活用しやすいと考えられるため、次頁でその詳細を記載する。

	物質区分	新規審査		一般化学物質	優先評価化学物質				
	評価段階	通常新規	少量／低生産 量新規	スクリーニング 評価	リスク評価（一次）			リスク評価 （二次）	
					評価Ⅰ	評価Ⅱ	評価Ⅲ		
人健康 毒性	一般毒性	28日反復投 与毒性試験 の実施（良 分解以外）	—	試験結果がなけ ればデフォルト 有害性クラス	試験結果がなけれ ば排出量で優先順 位付け	求め（10 条1項） 有害性等調査の	28日間反復投与毒性試験結果 より同等以上を利用 （ただし得られない場合あり）	（10 条2項） 有害性調査指示	慢性毒性試 験結果を利用

毒性試験の
代替法

確認時にお
ける高毒性
物質の把握

有害性情報が
得られない場合
の有害性評価

デフォルト有害性クラス
を付与し、優先評価
化学物質に指定する
優先順位付け等

10条1項を求
める優先順位付
け等

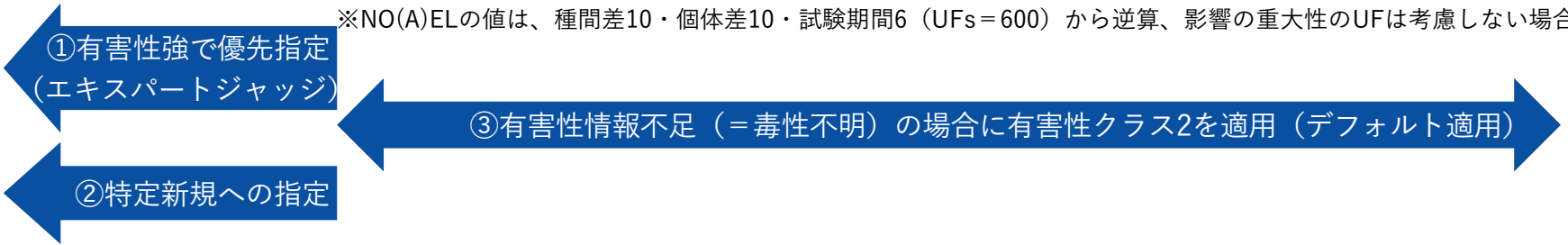
有害性情報が
得られない場合
の有害性評価

10条2項を求
める試験対象項
目等の設定

3 将来の行政利用に向けた検討・対応.
3.4 将来の行政利用に向けた活用方法の提案

- 一般化学物質について、国が有害性情報を収集することとしているが、有害性情報が得られない物質については、過小評価を避けるため、一定の有害性を有するものと仮定して有害性クラス2を付与するという、「デフォルト適用」の運用を導入。
- 基本的には、有害性クラス2が付与されると優先評価化学物質相当となる物質（ばく露クラス3以上）から対象となり、ホームページでのお知らせ等で約2ヶ月間弱の周知が行われ、設定期限までに有害性情報が提出されなければ、優先評価化学物質に指定される。
- 当該運用が開始されてから、現在まで人健康の観点でデフォルト適用が行われた物質はない。
- デフォルト適用候補物質の**実際の有害性としてはクラス2～クラス外まで様々と考えられることから、有害性が強い物質と考えられる物質から優先順位をつけて、デフォルト適用→優先指定→有害性情報の報告の求め発出（化審法10条1項）**をしていくことが望ましく、この優先順位付けにおいてAI-SHIPSの予測結果を活用できる可能性がある。

分類基準	有害性の項目	有害性クラス（有害性の単位はmg/kg/day）				
		1	2	3	4	クラス外
スクリーニング評価の判断基準	一般毒性	D値 = 0.0005 NO(A)EL = 0.3	D値 = 0.005 NO(A)EL = 3	D値 = 0.05 NO(A)EL = 30	D値 = 0.5 NO(A)EL = 300	



添付資料

- AI-SHIPS説明資料（第2回JaCVAM資料編纂委員会提出資料）

AI-SHIPS 説明資料

2024年11月12日

奈良先端科学技術大学院大学
みずほリサーチ&テクノロジーズ株式会社

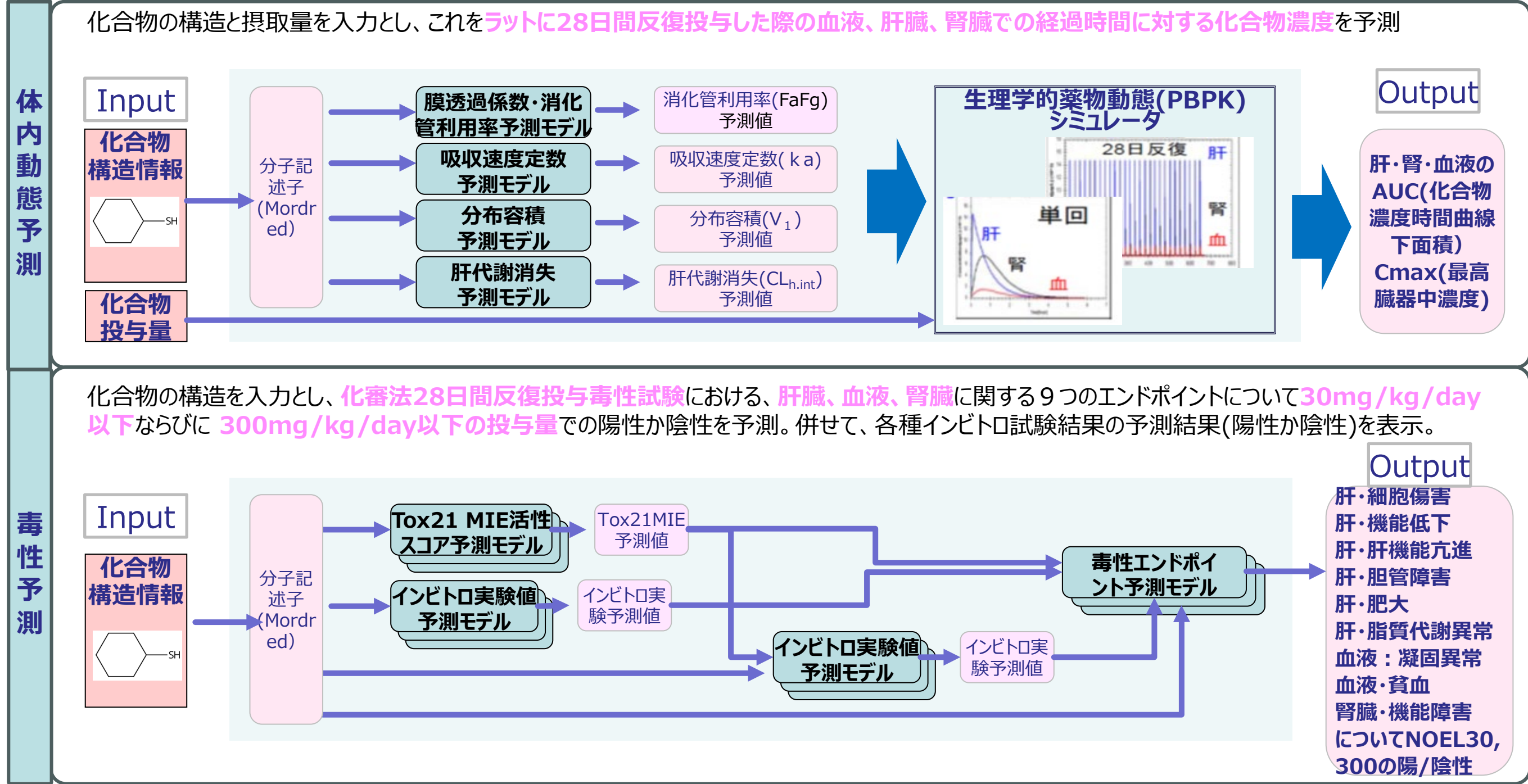
1. 背景、目的、全体像

2. 体内動態予測

3. 毒性予測

参考資料

1.背景、目的、全体像



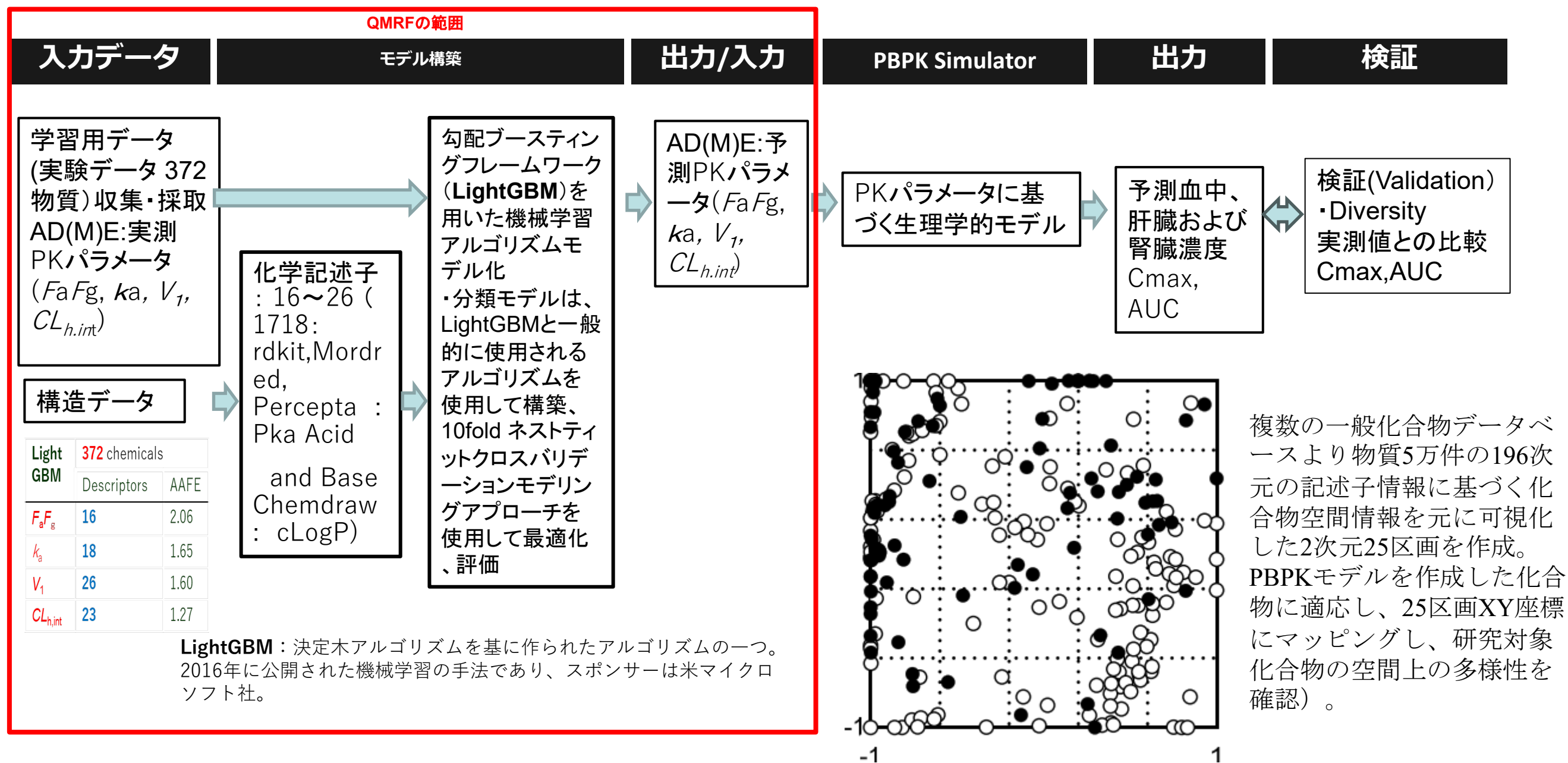
2. 体内動態予測

2. 体内動態予測 (1) 開発背景

PBPK予測システム：生理学的薬物動態 (PBPK)モデルを用いる化学物質の体内暴露量予測手法

- 毒性の発現においてばく露された化学物質の体内における動態予測 (ADME)は必須 曝露経路 (経口、経皮および吸入)
- 特に化審法のように長期間のばく露による蓄積等による毒性発現において蓄積部位、滞留時間・濃度は毒性発現の重要な指標。
- 本来であれば毒性予測システムとして一体化して代謝 (M)予測も含めた統合的予測システムの構築が望ましいが期間、資金的な理由でAI-SHIPSでは代謝を除く動態予測 (PBPK)システムを開発。
- ……28日間反復投与 (経口) では消化管吸収の有無、量が毒性発現の最初の判断につながる。(吸収が無い場合は毒性発現は考えにくい。)
- 代謝予測においてはすでに医薬品を中心に多くの予測システムが開発されており、この予測代謝体についてAI-SHIPSで毒性予測が可能

2. 体内動態予測 (2) PBPK予測システム構築の概要



Rat list (n=372)					372																			
物性値リスト					rat PBPK v5.3(5.4)																			
Rat No.	名称	Region	CAS	Smiles	Molecular weight	f,mol pH6.0 total	f,mol pH7.4 total	FaFg	ka (1/h)	k12 (1/h)	k21 (1/h)	CLh,int (L/h)	CLr (L/h)	rat パラメータ備考										
1	Tetrabromobisphenol A	20	79-94-7	CC(C)(c1cc(Br)c	544	#REF!	#REF!	1	0.155	0	0	0.109	113	0.0122										
2	2-Mercaptobenzimidazole	5	583-39-1	Sc1nc2ccccc2[nH	150	#REF!	#REF!	1	1.71	0	0	0.0542	0.0074	0.00035										
3	Acetaminophen	20	103-90-2	CC(=O)Nc1ccc(C	151	#REF!	#REF!	1	14.4	0	0	0.17	0.556	0.0221										
4	4-Nonylphenol	20	84852-15-3	CCCCCCCCCc1	220	#REF!	#REF!	1	1.39	0	0	1.15	48.4	0.0186										
5	m-Cresol	20	108-39-4	Cc1cccc(O)c1	108	#REF!	#REF!	1	2.88	0	0	0.114	1.9	0.0334										
6	1,2,4-Trimethylbenzene	10	95-63-6	Cc1ccc(C)c(C)c1	120	#REF!	#REF!	1	1.51	0	0	1.67	7.51	0.0327										
7	1,2,3-Trimethylbenzene	10	526-73-8	Cc1cccc(C)c1C	120	#REF!	#REF!	1	1.38	0	0	1.59	7.28	0.032										
8	Paraacetaldehyde	15	123-63-7	CC1OC(C)OC(C	132	#REF!	#REF!	1	2.85	0	0	0.196	0.0723	0.00363										
9	Bisphenol A	20	80-05-7	CC(C)(c1ccc(O)c	228	#REF!	#REF!	0.0982	2.13	1.88	0.0921	0.599	2.75	0.0172										
10	1,4-Dioxane	15	123-91-1	C1COCCO1	88.1	#REF!	#REF!	1	0.35	0	0	0.12	0.0254	0.00029										
11	Dextromethorphan	2	125-71-3	COc1ccc2c(c1)C	271	#REF!	#REF!	0.0548	14.8	0	0	3.65	18.5	0.0712										
12	Atomoxetine	0	83015-26-3	CNCCC(Oc1ccc	255	#REF!	#REF!	0.0507	0.886	0	0	1.35	4.62	0.0417										
13	Metoprolol	18	51384-51-1	COCCc1ccc(OC	267	#REF!	#REF!	0.0607	1.59	0.642	0.188	0.299	0.412	0.024										
14	Alprazolam	7	28981-97-7	CC1=NN=C2CN	309	#REF!	#REF!	1	32.4	0	0	6.35	11.5	0.0593										
15	Dabigatran	9	211914-51-1	Cn1c(CNc2ccc(C	472	#REF!	#REF!	0.0917	2.52	0	0	0.655	0.401	0.024										
16	Oseltamivir	16	196618-13-0	CCOC(=O)C1=C	312	#REF!	#REF!	0.67	5.55	0.762	0.0855	1.48	1.18	0.0404										
17	Azithromycin	4	83905-01-5	CCC1OC(=O)C1	749	#REF!	#REF!	1	0.509	0	0	6.29	2.17	0.05										
18	p-Cresol	20	106-44-5	Cc1ccc(O)cc1	108	#REF!	#REF!	1	3.12	0	0	0.102	1.85	0.0328										
19	Pemafibrate	14	848259-27-8	COC1=CC=C(C=C	491	#REF!	#REF!	0.342	5.99	5.43	1.28	0.783	120	0.0204										
20	Benzylamine	13	642-72-8	CN(C)CCCCc1m	309	#REF!	#REF!	0.754	6.33	0	0	1.14	8.25	0.0486										

- #
- #
- #
- #
- 372

薬物動態誌等から372物質のPBPKデータを取得、データベース化

Updated in Silico Prediction Methods for Fractions Absorbed and Absorption Rate Constants of 372 Disparate Chemicals for Use in Physiologically Based Pharmacokinetic Models for Estimating Internal Concentrations in Rats																		
Table S1. Source literature for pharmacokinetics in rats after oral administrations, chemical descriptors, and <i>in vivo</i> -derived input values for rat PBPK models of the 39 additional chemicals (XLSX)																		
Input values																		
Compound	Cas No.	SMILES	logP	f _{u,p}	R _b	K _{a,h}	K _{a,r}	k _p 1/h	V _d , L	F _a /F _g	CL _{h,abs} L/h	CL _h L/h	CL _r L/h	Literature/common technical document				
1 Alogliptin	850649-61-5	CN1C(=O)C	0.989	0.805	0.794	0.858	0.858	3.62	1.08	0.144	0.370	0.221	0.0242	https://www.pmda.go.jp/drugs/2019/P202000029/index.html				
2 Ambrisentan	177036-94-1	CC1=CC(=	3.75	0.750	0.827	4.88	4.88	1.97	0.133	1	0.0616	0.0438	0.00472	https://www.pmda.go.jp/drugs/2019/P202000046/index.html				
3 Anamorelin	249921-19-5	CC(C)(C(=	2.80	0.565	0.899	3.43	3.43	0.400	0.497	0.0130	0.418	0.185	0.0198	https://www.pmda.go.jp/drugs/2019/P20200113006/index.html				
4 Azilsartan	147403-03-0	CCOC1=NC	4.93	0.750	0.827	5.05	5.05	0.996	0.141	1	0.0644	0.0457	0.00492	https://www.pmda.go.jp/drugs/2019/P202000031/index.html				
5 Brexpiprazole	913611-97-9	C1CN(CCN	4.65	0.439	0.921	4.14	4.14	0.564	0.943	0.268	3.18	0.529	0.0577	https://www.pmda.go.jp/drugs/2018/P20180207002/index.html				
6 Crizotinib	877399-52-5	CC(C)=C(C	4.29	0.114	0.843	3.19	3.19	0.761	2.54	0.146	3.12	0.251	0.0262	https://www.pmda.go.jp/drugs/2012/P2012000551/index.html				
7 Dioscin	1285572-51-1	C[C@H]	3.66	0.065	0.795	2.94	2.94	0.0674	5.44	0.0169	7.78	0.8530	0.0333	https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15384036				
8 Dotinurad	1285572-51-1	C1N(C2=C	1.99	0.0672	0.797	1.17	1.17	16.6	0.0621	1	0.219	0.0144	0.00145	https://www.pmda.go.jp/drugs/2020/P20200219001/index.html				
9 Enarodustat	1262132-81-9	C1=CC=C(C	0.351	0.750	0.827	0.702	0.702	4.78	0.0683	1	0.0730	0.0514	0.00553	https://www.pmda.go.jp/drugs/2020/P20200923001/index.html				
10 Evocalcet	870964-67-3	CC(C1=CC	1.86	0.750	0.827	1.67	1.67	8.99	0.0959	1	0.0444	0.0320	0.00345	https://www.pmda.go.jp/drugs/2018/P20180413003/index.html				
11 Iguratimod	123663-49-0	CS(=O)(=O	1.93	0.167	0.877	1.20	1.20	0.461	0.0400	1	0.100	0.0164	0.00167	https://www.pmda.go.jp/drugs/2012/P2012000671/index.html				
12 Imeglimin	775351-65-0	C[C@H]	-0.925	0.900	0.719	0.721	0.721	1.39	1.68	1	0.67	0.353	0.0374	https://www.pmda.go.jp/drugs/2012/P2012000671/index.html				
13 Irbesartan	138402-11-6	CCCCC1=N	6.05	0.745	0.829	5.04	5.04	1.35	2.96	0.919	0.138	0.0918	0.00997	https://www.pmda.go.jp/drugs/2008/P200800021/index.html				
14 Isaxomib	1072833-77-2	B(C(C(C(C	1.10	0.144	0.864	0.574	0.574	6.70	1.06	0.523	4.12	0.350	0.0369	https://www.pmda.go.jp/drugs/2017/P20170405001/index.html				
15 Lemborexant	1369764-02-2	CC1=NC(=	3.99	0.0466	0.768	2.96	2.96	1.07	1.09	0.495	60.6	0.655	0.0727	https://www.pmda.go.jp/drugs/2020/P20200203001/index.html				
16 Lenvatinib	417716-92-8	COC1=CC2	3.35	0.086	0.819	2.87	2.87	9.85	1.21	0.0165	5.73	0.313	0.0327	https://www.pmda.go.jp/drugs/2015/P2015000035/index.html				
17 Levettacetam	102767-28-2	CCC(C(=O	-0.344	0.811	0.790	0.693	0.693	10.4	0.208	1	0.0575	0.0442	0.00479	https://www.pmda.go.jp/drugs/2010/P201000046/index.html				
18 Luseogliflozin	898537-18-3	CCOC1=CC	3.96	0.048	0.770	2.96	2.96	3.00	2.88	0.938	33.7	0.559	0.0560	https://www.pmda.go.jp/drugs/2014/P2014000338/index.html				
19 Molidustat	1154028-82-6	C1COCCN	-0.829	0.873	0.743	0.711	0.711	3.98	0.611	1	0.747	0.370	0.0390	https://www.pmda.go.jp/drugs/2020/P20201225001/index.html				
20 Nalfurafine	152657-84-6	CN[C@H]	2.67	0.695	0.854	3.44	3.44	12.2	0.165	0.0184	0.998	0.383	0.0398	https://www.pmda.go.jp/drugs/2014/P2014001681/index.html				

- #
- #
- #
- #
- 372

2. 体内動態予測 (3) PBPK予測システムの入出力とシュミレーターとの関係

PBPK* モデル入力値 : 収集既存情報(薬物動態誌等)を利用し、機械学習(LightGBM)によるラット4種動態パラメータ値予測

生体(簡便のために固定値)

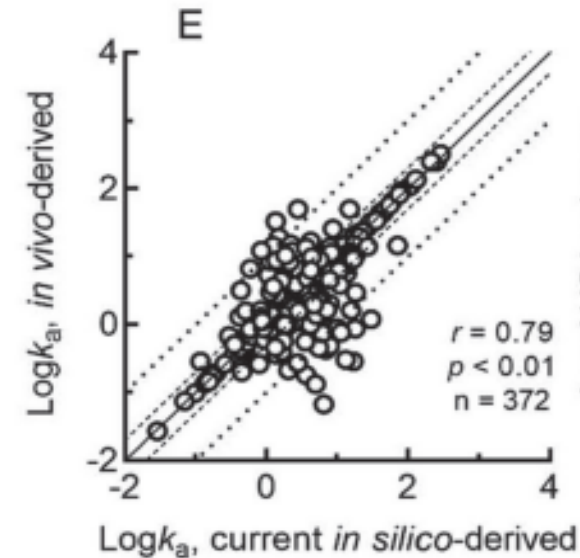
- ✓ 肝重量 V_h
 - ✓ 全身(肝)血流速度 Q_h など
- 物質(物性値)
- ✓ 分子量、分配係数 P
 - ✓ 酸解離定数 pK_a
 - ✓ タンパク質非結合率 $f_{u,p}$ など

生体と物質のかかわり

- ✓ 利用率 $F_a F_g$
- ✓ 吸収速度定数 k_a
- ✓ 分布 V_1
- ✓ 代謝消失 $CL_{h,int}$ など

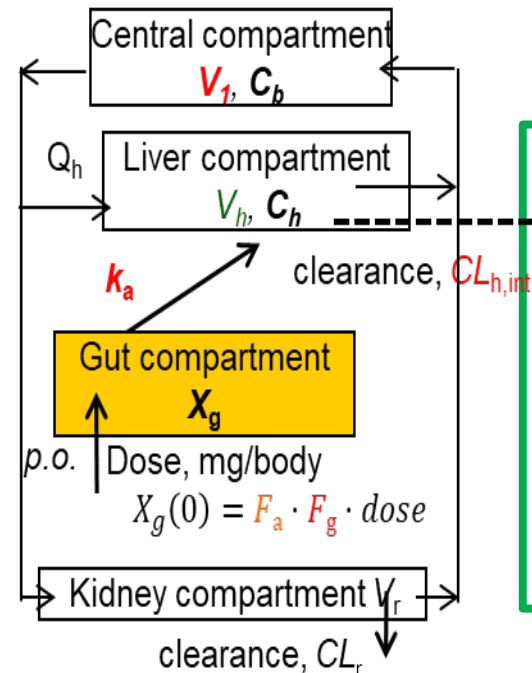
LightGBM	372 chemicals	
M	Descriptors	AAFE
$F_a F_g$	16	2.06
k_a	18	1.65
V_1	26	1.60
$CL_{h,int}$	23	1.27

AAFE, average absolute fold error



*in silico*予測値と実測値の相関性

$F_a F_g$: $r = 0.86$
 $\text{Log}k_a$: $r = 0.79$
 V_1 : $r = 0.82$
 $CL_{h,int}$: $r = 0.97$



Gut $\frac{dX_g}{dt} = -k_a \cdot X_g$ (at $t = 0, X_g(0) = F_a \cdot F_g \cdot \text{dose}$)

Liver $V_h \frac{dC_h}{dt} = k_a \cdot X_g - \frac{Q_h \cdot C_h \cdot R_b}{K_{p,h}} - CL_{h,int} \cdot \frac{C_h}{K_{p,h}} \cdot f_{u,p} + Q_h \cdot C_b$

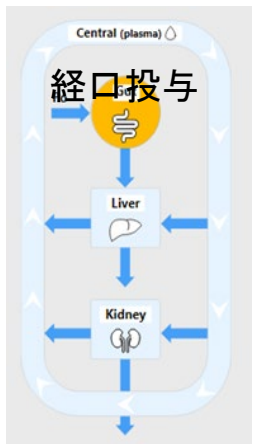
Central $V_1 \frac{dC_b}{dt} = -(Q_h + Q_r) \cdot C_b + \frac{Q_h \cdot C_h \cdot R_b}{K_{p,h}} + \frac{Q_r \cdot C_r \cdot R_b}{K_{p,r}}$

Kidney $V_r \frac{dC_r}{dt} = Q_r \cdot C_b - \frac{Q_r \cdot C_r \cdot R_b}{K_{p,r}} - CL_r \cdot \frac{C_r}{K_{p,r}} \cdot f_{u,p}$

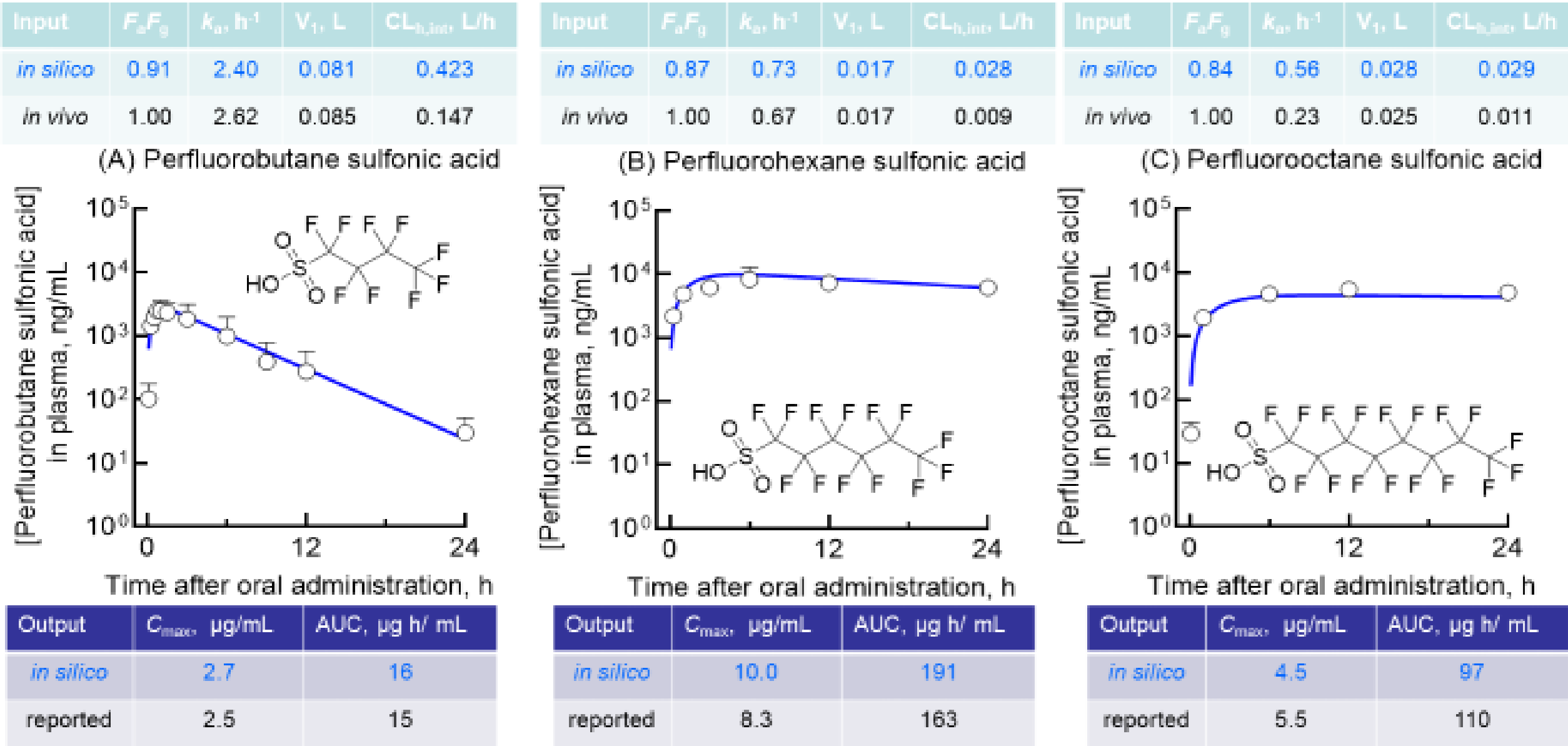
X_g : 腸内化合物量、 Q_h : 肝臓血流量、 Q_r : 腎臓血流量、 V_h : 肝臓容積、 V_r : 腎臓容積、 C_h : 肝臓基質濃度、 C_r : 腎臓基質濃度、 C_b : 血液基質濃度、 $K_{p,r}$: 腎血漿中濃度比 $\equiv K_{p,h}$

$k_a, CL_{h,int}, V_1$ and $F_a F_g$

血中、肝臓、腎臓
 $C_{b,h,r} / t$ (0-24h, 28 days)
 C_{max} ,
 AUC



Reported (plotted points) and Estimated (lines) Plasma Concentrations of Perfluorinated Compounds After Oral Doses Using PBPK Modeling with *In Silico* Data-driven Input Parameters

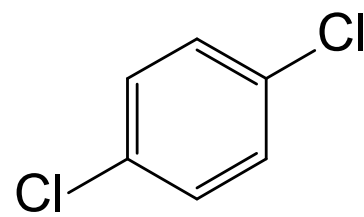


Reported plasma concentrations normalized by dose (1.0 mg/kg) were taken from the data set published by Sayre et al., 2020.

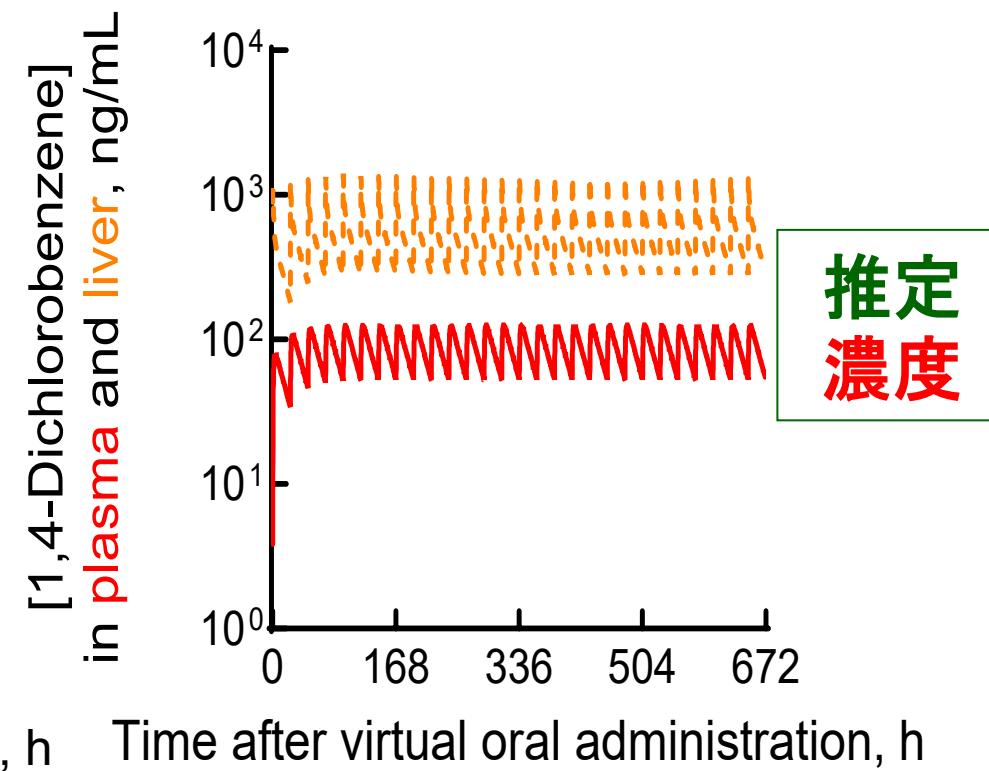
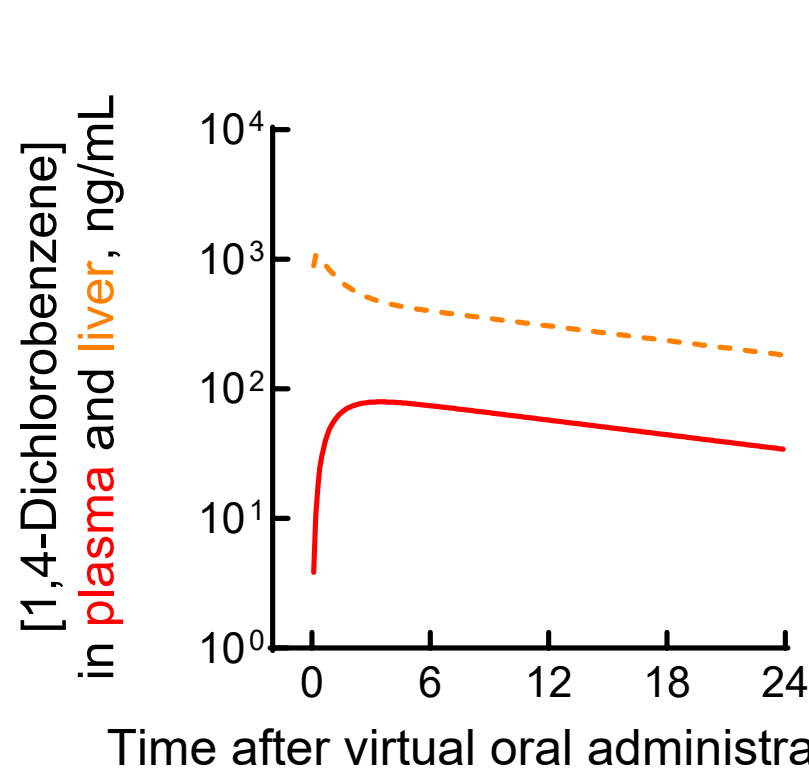
Kamiya, Yamazaki et al, J Toxicol Sci, 45, 763-7, 2020 and updated

(仮想)経口投与1.0 mg/kg(28 日反復投与)

血中、肝中濃度推移データ出力



MW	147
R_b	0.70
$f_{u,p}$	0.018
$clogP$	3.57
$F_a F_g$	0.61
k_a	0.95 h ⁻¹
V_1	2.0 L
$CL_{h,int}$	3.9 L h ⁻¹



Adachi, Yamazaki et al., 2022

参照すべき血中濃度情報等がなくとも、評価対象物質の生理学的薬物動態モデル用入力値を推定し、出力値を可視化し、ラット体内ばく露予測が可能



QMR identifier (JRC Inventory):To be entered by JRC

QMR Title:

Printing Date:2024/XX/XX

1.QSAR identifier

1.1. QSAR identifier (title):

LightGBMを使用した肝代謝消失CL_{h.int}予測
Lightgbm for CL_{h.int}

1.2. Other related models:

1.3. Software coding the model:

Lightgbm 2.3.0

ツールのダウンロードサイト
https://www.jstage.jst.go.jp/article/bpb/45/12/45_b22-00502/_supplement/_download/45_b22-00502_3.zip

2.General information

2.0. Abstract

肝代謝消失クリアランス (CL_{h.int}) は、薬物の組織移行性を示す重要なパラメーターである。372物質のデータを学習させたLightGBMを用いて作成した本モデルにおいて、その予測精度は相関係数が0.97である。

7.6. Experimental design of test set:

6

nested cross-validationを使用しており、化合物全体の10%を外部セットとして使用している。(6.12参照)

7.7. Predictivity - Statistics obtained by external validation:

No

7.8. Predictivity - Assessment of the external validation set:

No

7.9. Comments on the external validation of the model:

No

8.Providing a mechanistic interpretation - OECD Principle 5

8.1. Mechanistic basis of the model:

消失過程においては、代謝的要因と排泄に重要な要因として血漿中タンパク (非) 結合率等が挙げられる。本システムで説明可能性のある物理化学記述子としての重要な項目 (4.3参照) として、分配係数 (ClogP)、血漿中タンパク非結合率 (fu_p) 等の選択は妥当なものと推定される。



QMR identifier (JRC Inventory):To be entered by JRC

QMR Title:

Printing Date:2024/XX/XX

1.QSAR identifier

1.1. QSAR identifier (title):

LightGBMを使用した消化管利用率F_a F_g予測
LightGBM for F_a・F_g

1.2. Other related models:

1.3. Software coding the model:

Lightgbm 2.3.0

ツールのダウンロードサイト
https://www.jstage.jst.go.jp/article/bpb/45/12/45_b22-00502/_supplement/_download/45_b22-00502_3.zip

2.General information

2.0. Abstract

F_a・F_g は、薬物が経口投与された際に、実際に血流に到達する割合を示す指標であり、薬物の体内動態を評価する上で重要な要素である。372物質のデータを学習させたLightGBMにて作成した本モデルにおいて、その予測精度は相関係数が0.86であり、る。

7.6. Experimental design of test set:

nested cross-validationを使用しており、化合物全体の10%を外部セットとして使用している。(6.12参照)

7.7. Predictivity - Statistics obtained by external validation:

No

7.8. Predictivity - Assessment of the external validation set:

6

No

7.9. Comments on the external validation of the model:

No

8.Providing a mechanistic interpretation - OECD Principle 5

8.1. Mechanistic basis of the model:

化学物質の吸収過程である脂質性細胞腸管膜の透過は、油-水分配係数(octanol/water partition coefficient *P*, log*P*) あるいは腸管や血液等の周辺環境 pH を考慮した分配係数 (pH-dependent distribution coefficient *D*, log*D*) が重要とされており本システムで説明可能性のある物理化学記述子の重要な項目 (4.3 参照) として分配係数 (log*D* at pH 6.0、log*D* at pH 7.5) および分子量を選択しているのは妥当と推定される。

3. 毒性予測

(1)開発目的

(2)開発戦略

(3)全体像

(4)モデル開発

(5) Applicable Domain

- 化学物質の安全性の評価は、従来、反復投与毒性試験など動物実験により行われてきた。しかし、**動物実験は高額な費用や時間がかかる**こと、また**動物福祉**の観点から、課題あり

これまでの取り組み

- インビト毒性試験データベースの構築（HESS等）
- 構造活性相関手法等により、化学構造とインビト毒性の関連性に基づいた毒性予測

課題・問題点

- 変異原性など、一定の化学構造との関連が明らかな毒性以外は、**どのような理由・機序で毒性が発現するか不明**
→製品開発（研究者）や規制当局に受け入れられない。

近年の欧米での取り組み

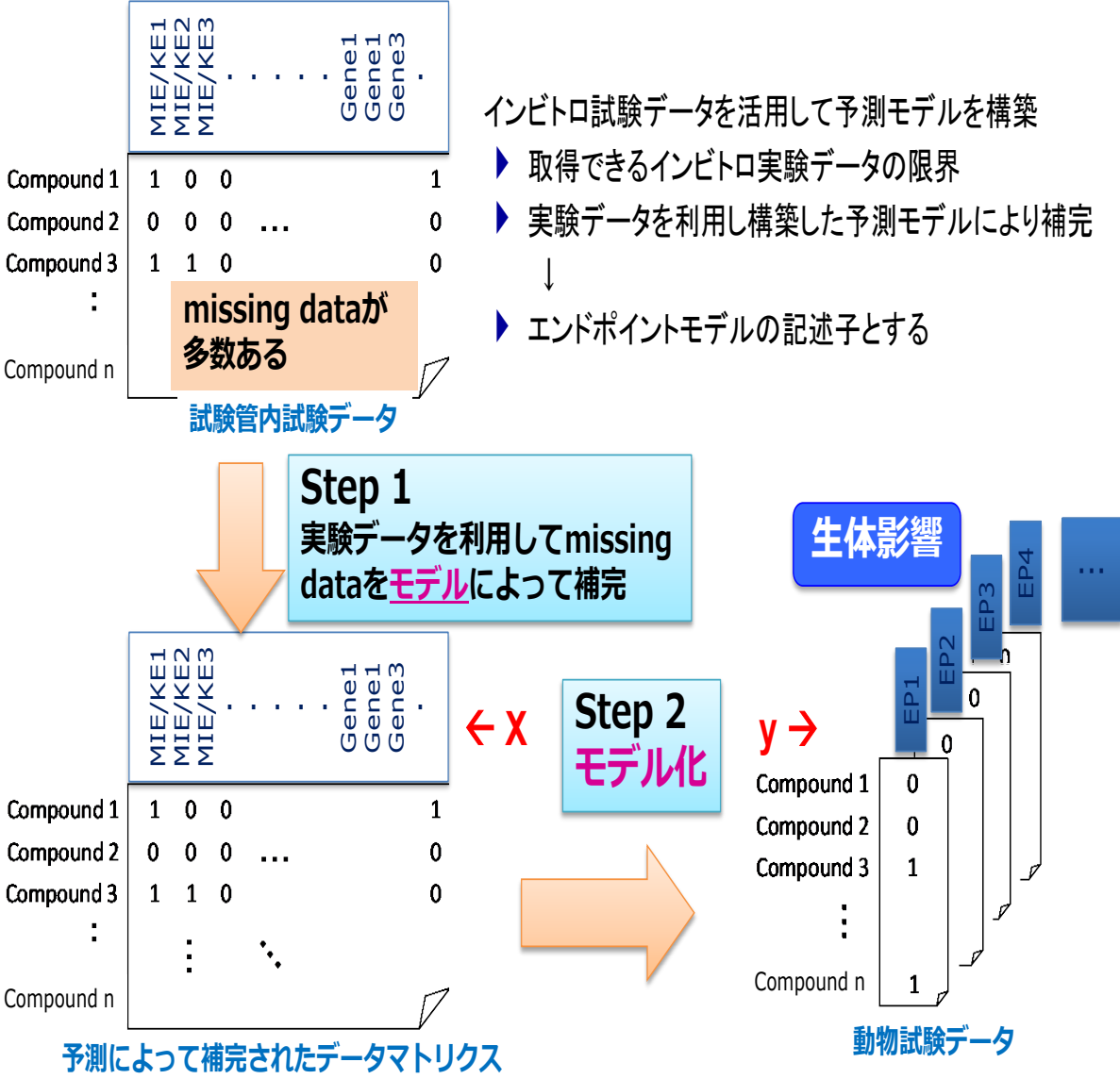
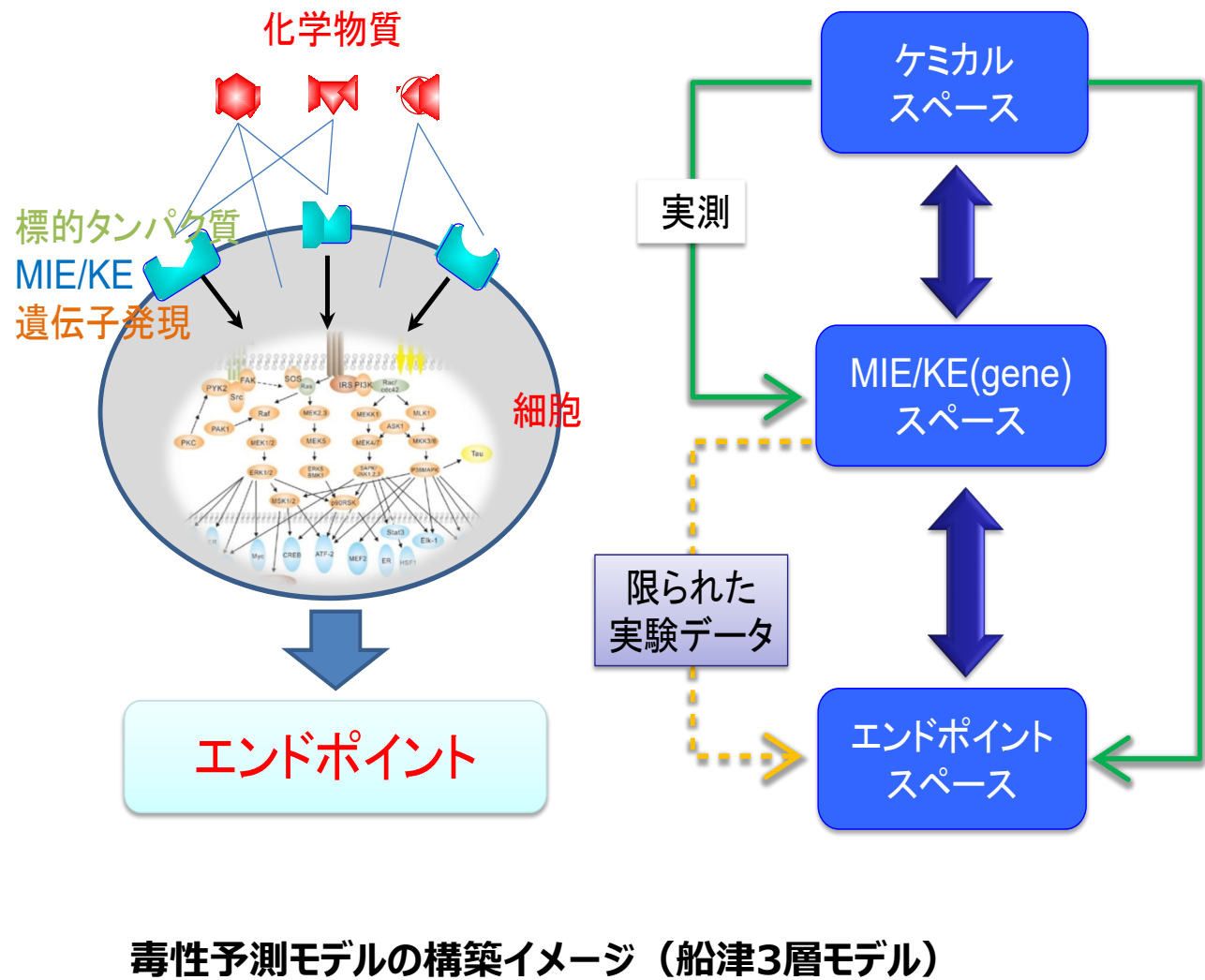
- 毒性に関連する可能性があるタンパク質と化学物質の反応性を評価可能なハイスループット試験系を構築（Tox21/ToxCast）
- 大型予算により、大量の化学物質を、多数のインビトロ試験で評価
- ヒトでの有害性をインビトロ試験結果から評価することが目標

課題・問題点

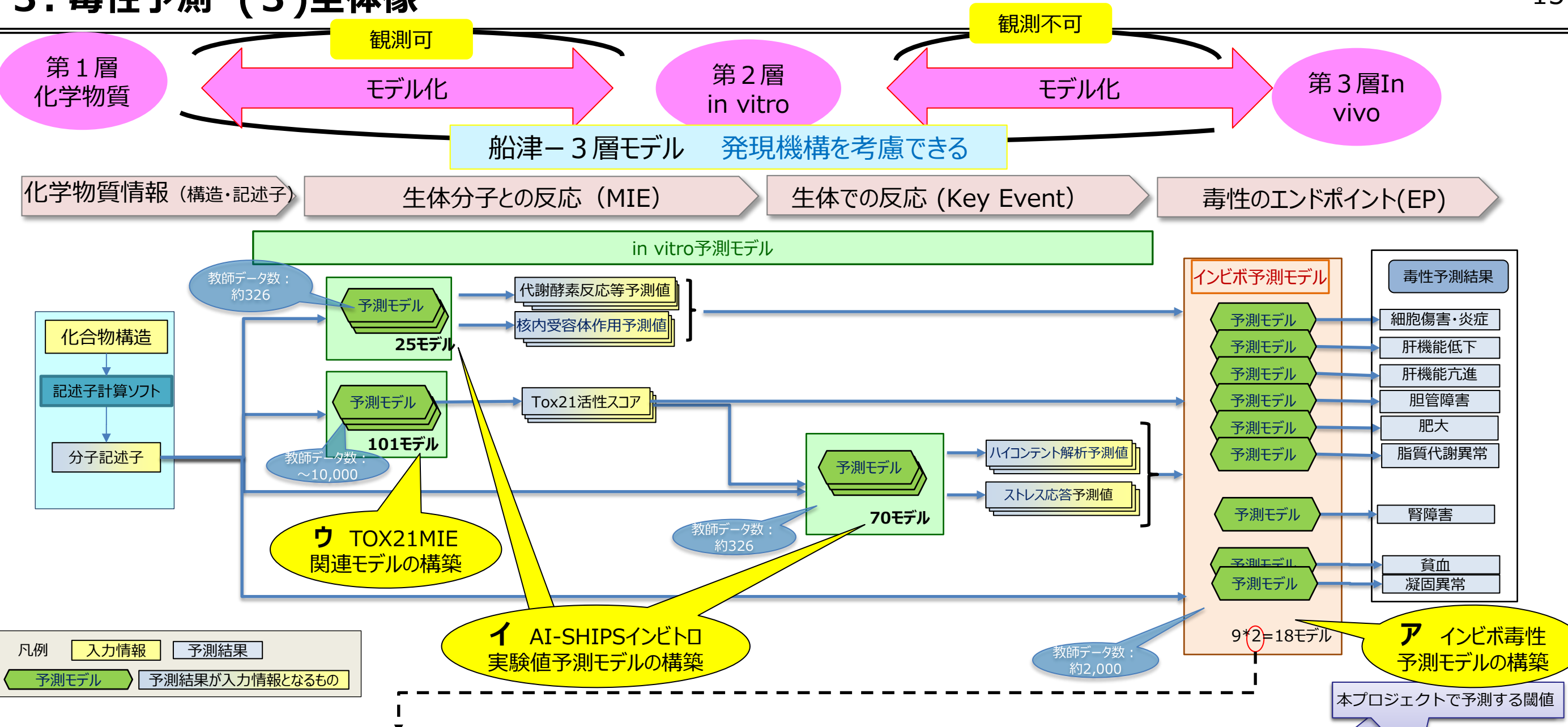
- **被験物質のインビト毒性が不明**
→「正解」がないため、AI技術等を用いてもインビト毒性予測モデルの構築が困難

- 実用化には、**毒性発現機序情報を提示可能な予測モデル**が必要
- **我が国が有する毒性試験データ**、AI技術を活用し、コンピュータ（インシリコ）モデル化
 - 毒性発現に關与する細胞内イベントのインビトロ試験データ（Tox21データの活用、プロジェクトで実測）から、細胞内イベント予測モデルを構築
 - 化学構造情報だけでなく、毒性発現関連細胞内イベント情報を利用したインビト毒性予測モデルを構築

世界初・日本独自の**毒性発現機序関連情報を提示可能なインビト毒性予測システム**を構築



予測モデルによる実験値の補完イメージ



- 化審法の観点から、下記を閾値とした2つの2値分類モデルを構築
NOEL=30 mg/kg/day, 300(mg/kg/day)

分類基準	有害性の項目	有害性クラス (有害性の単位はmg/kg/day)				
		1	2	3	4	クラス外
スクリーニング評価の判断基準	一般毒性 (28日)	D値 = 0.0005 NOAEL = 0.3	D値 = 0.005 NOAEL = 3	D値 = 0.05 NOAEL = 30	D値 = 0.5 NOAEL = 300	

○ : 実験値
■ : 予測値

TOX21は、インビボデータはほぼなし（インビボの物質との重なりは少ない。）
⇒TOX21の予測モデルを作成（ウ）し、予測値で補完する必要

HESS等から抽出したインビボ毒性データ（約2,000物質）から、326物質を抽出し、インビトロ試験を実施。
⇒326の実験データを学習データとしてインビトロ試験の予測モデルを作成（イ）し、残りの1700あまりの物質について予測値で補完する必要

HESSやREACH収載の化学物質
(約2千物質)

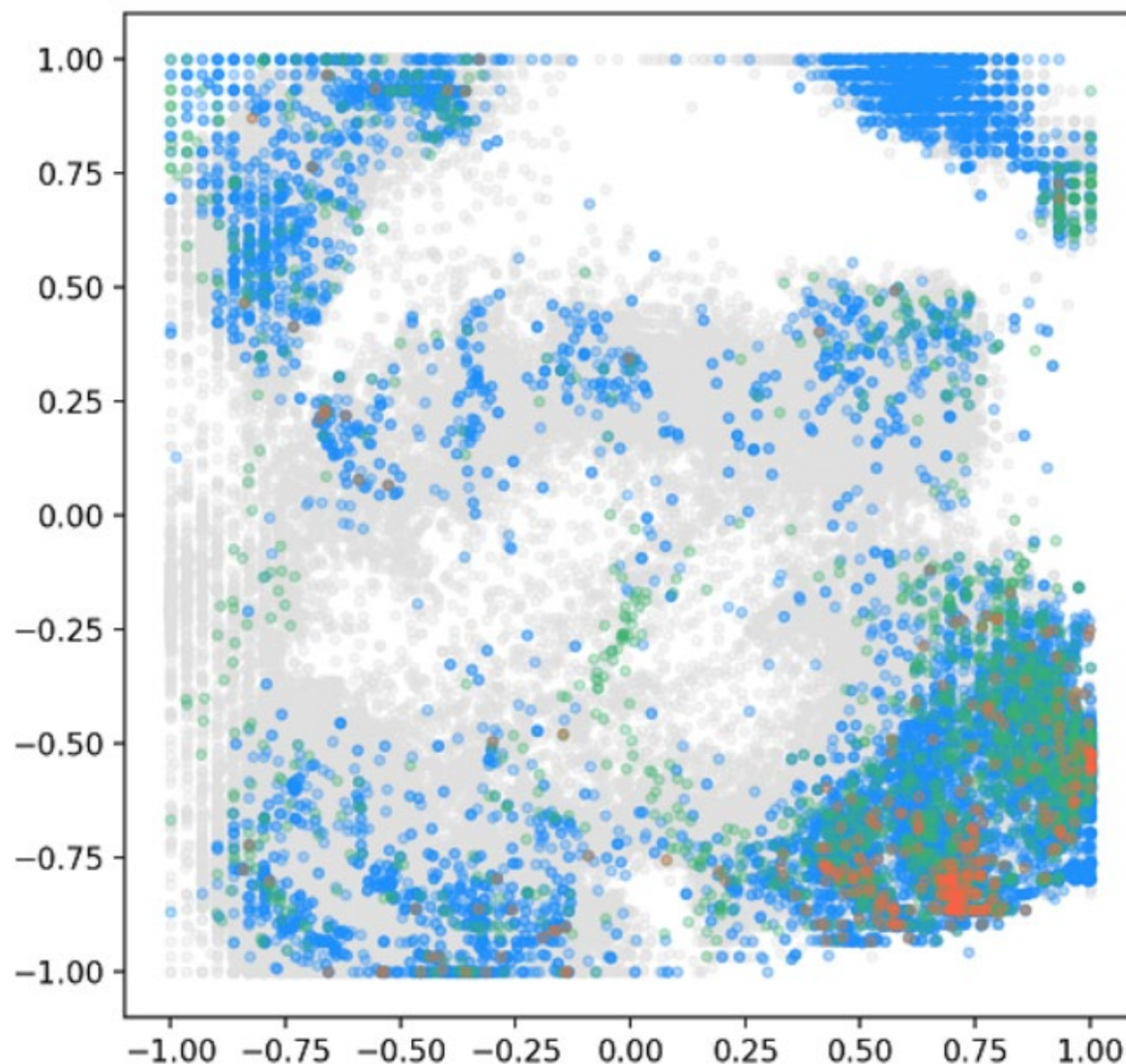
TOX21 (約一万物質)

名称・構造		分子記述子 (mordred記述子)					TOX21実験値・予測値			インビトロ実験値・予測値					エンドポイント毒性値 (LV01-06,KD01.BD01-02)					
○	○	■	■	■	■	■	■	■	■	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
○	○	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	○	○	○	○	○	○
○	○	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	○	○	○	○	○	○
○	○	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	■	○	○	○	○	○	○
○	○	■	■	■	■	■	■	■	■	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
○	○	■	■	■	■	■	■	■	■	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
○	○	■	■	■	■	■	■	■	■	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
○	○	■	■	■	■	■	■	■	■	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
○	○	■	■	■	■	■	○	○	○	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	
○	○	■	■	■	■	■	○	○	○											
○	○	■	■	■	■	■	○	○	○											
○	○	■	■	■	■	■	○	○	○											

インビボ毒性予測モデル（ア）の学習データ

インビボ毒性予測モデル（ウ）の学習データ

各学習データのケミカススペースにおける広がり



Chemical Space

PubChemに搭載されている化学物質10万物質をランダムに抽出し、二次元化学構造に基づくmordred記述子を計算した。その後、記述子が計算できない物質や分子量1000以上の物質を除外するとともに（最終物質数：約99000）、欠損値がある記述子の削除や相関性が高い記述子の片方の削除などにより約300記述子に絞り込み、これらを元に東京大学船津研究室で開発された generative topographic mapping (GTM)を利用してこれら参照物質を二次元にマッピング。

「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「哺乳類を用いる28日間反復投与毒性試験」をターゲットにしているため、化審法の対象となる工業用化学物質を網羅することを目標に、インビボモデル学習データの収集している。

- PubChemに搭載されている化学物質10万物質(バックグラウンド)
- インビボモデルの学習データ
- インビトロモデルの学習データ
- Tox21MIE活性スコアモデルの学習データ

3. 毒性予測 (4)モデル開発 ア：インビボ毒性予測モデルの構築

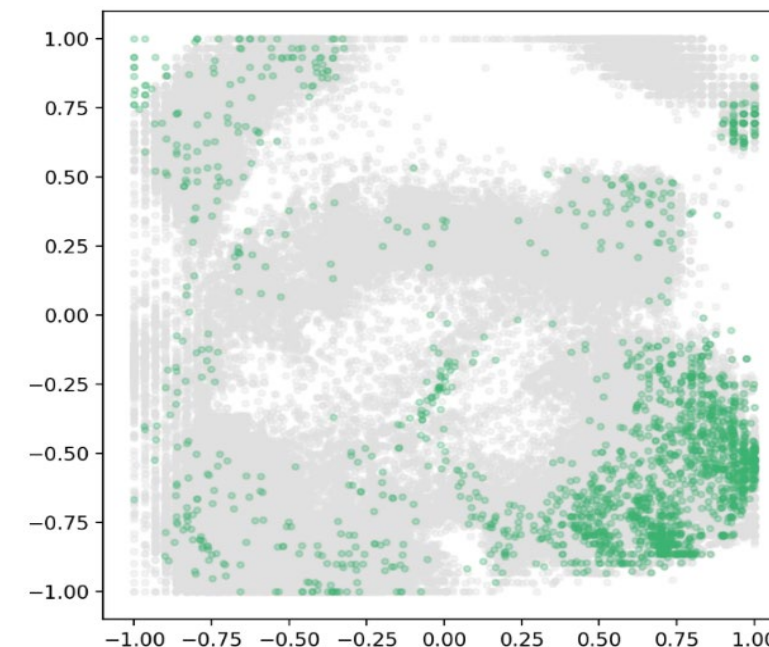
教師（学習）データの収集

- 有害性評価支援システム統合プラットフォーム（以後、HESS）バージョン4.0に収載のラットの毒性試験データ約900(※1)と、プロジェクトで収集したラットの毒性試験データ(※2)約1,400の合計約2,200データを収集。
- いずれも、OECD TG407（28日間反復投与経口投与毒性試験）、OECD TG422（反復投与毒性試験と生殖/発生毒性スクリーニング試験の併合試験）またはこれに相当する毒性試験。投与期間が28日以上90日未満（亜急性毒性に該当する）を採用。
- 2,200物質についてスクリーニング(※3)を経た、約2,000物質を採用

※1 HESSから収載したデータの情報源は、TG-Gate、化審法既存物質、OECD HPV、化審法新規物質、Tox-Omix、ToxRef

※2：プロジェクトで収集したラットの毒性試験データ

情報源	データ数
化審法新規審査シート	110
REACH登録情報	1250
ToxRef DB	30



インビボ毒性予測モデルの学習データ物質（緑）のケミカルスペースにおける広がり

※3スクリーニング（下記を除外）

- ✓ 混合物
- ✓ 被験物質にH,C,N,O,S,P, ハロゲン(F, Cl, Br, I),アルカリ金属 (Li, Na, K, Cs)、アルカリ土類金属 (Ca, Mg)以外の原子を含む
- ✓ 炭素を含まない（インビトロ試験の被験物質に炭素を含まない物質はないため）
- ✓ 化審法対象外

予測対象

- 「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「哺乳類を用いる28日間反復投与毒性試験」（OECDテストガイドライン407）。
- HESSに収載されている全441の毒性所見（雄性ラット）の分析を行い、肝、腎臓、血液毒性に関する所見をグルーピングし、各グループを予測対象とした。

分類	モデル名	グループ名	HESSの毒性所見による定義
肝毒性	EP_LV01	細胞傷害・炎症	血中ALT↑、肝細胞壊死、肝細胞浸潤等、HESSの毒性所見の6つの所見のNOELの最低値
	EP_LV02	肝機能低下	血中Alb↓、血中タンパク↓、肝重量↓等、HESSの毒性所見の5つの所見のNOELの最低値
	EP_LV03	肝機能亢進	血中Alb↑、血中タンパク↑、HESSの毒性所見の3つの所見のNOELの最低値
	EP_LV04	胆管障害	総ビリルビン↑、ALP↑、γ-GTP↑等、HESSの毒性所見の5つの所見のNOELの最低値
	EP_LV05	肥大	肝細胞肥大、肝腫大、肝絶対重量↑等、HESSの毒性所見の5つの所見のNOELの最低値
	EP_LV06	脂質代謝異常	血中総Chol↑↓、血中TG↑↓等、肝脂肪変性等、HESSの毒性所見の10つの所見のNOELの最低値
血液毒性	EP_BL01	血液凝固異常	プロトロンビン時間↑、活性化部分トロンボプラスチン時間↑、フィブリノーゲン↓等、HESSの毒性所見の4つの所見のNOELの最低値
	EP_BL02	貧血	赤血球数↓、ヘモグロビン↓、ヘマトクリット値↓、網状赤血球数↑等、HESSの毒性所見の4つの所見のNOELの最低値
腎毒性	EP_KD01	腎機能障害	BUN↑、血中Cre↑、腎細胞浸潤、尿細管萎縮・変性・上皮剥離、腎絶対重量↑等、HESSの毒性所見の28つの所見のNOELの最低値

- 各エンドポイント毎に、化審法における28日間反復投与毒性試験に基づく有害性クラス3及び4の閾値に準じた以下2つのモデルを構築した（9エンドポイント×2＝18モデル）。
- ・ NO(A)EL≤300mg/kg/day」（陽性）か否（陰性）かの2区分に分類する二値分類モデル(NOEL≤300モデル)
- ・ NO(A)EL≤30mg/kg/day」（陽性）か否（陰性）かの2区分に分類する二値分類モデル(NOEL≤30モデル)

化審法における有害性クラスの閾値と、本事業で採用した2値化の閾値

分類基準	有害性の項目	有害性クラス（有害性の単位はmg/kg/day）				
		1	2	3	4	クラス外
スクリーニング評価の判断基準	一般毒性（28日）	D値=0.0005 NOAEL=0.3	D値=0.005 NOAEL=3	D値=0.05 NOAEL=30	D値=0.5 NOAEL=300	

予測対象ごとの学習データの陽性／陰性データ数

エンドポイント		化合物数	NOEL≤300モデル 陽性物質数（陽性率）		NOEL≤30モデル 陽性物質数（陽性率）	
EP_LV01	細胞傷害・炎症	1917	794	（41.4%）	141	（7.4%）
EP_LV02	肝機能低下	1922	722	（37.6%）	124	（6.5%）
EP_LV03	肝機能亢進	1921	764	（39.8%）	141	（7.3%）
EP_LV04	胆管障害	1922	777	（40.4%）	159	（8.3%）
EP_LV05	肥大	1911	1028	（53.8%）	315	（16.5%）
EP_LV06	脂質代謝異常	1918	862	（44.9%）	242	（12.6%）
EP_BL01	血液凝固異常	1922	674	（35.1%）	117	（6.1%）
EP_BL02	貧血	1920	778	（40.5%）	184	（9.6%）
EP_KD01	腎機能障害	1919	941	（49.0%）	221	（11.5%）

3. 毒性予測 (4)モデル開発 ア：インビボ毒性予測モデルの構築

説明変数とモデル構築方法

【説明変数】

A) 化合物構造に基づく物理化学パラメータの記述子(15個)

1,000を超えるmordred記述子から、選択した15種

B) インビトロ予測モデル(イで構築) 予測値 (95個)

構築した103のモデルのうち、精度評価でbalanced accuracy $\geq$ 0.65を達成した95種のモデルの予測値

C) Tox21-MIE活性スコア予測モデル(ウで構築) 予測値 (101個)

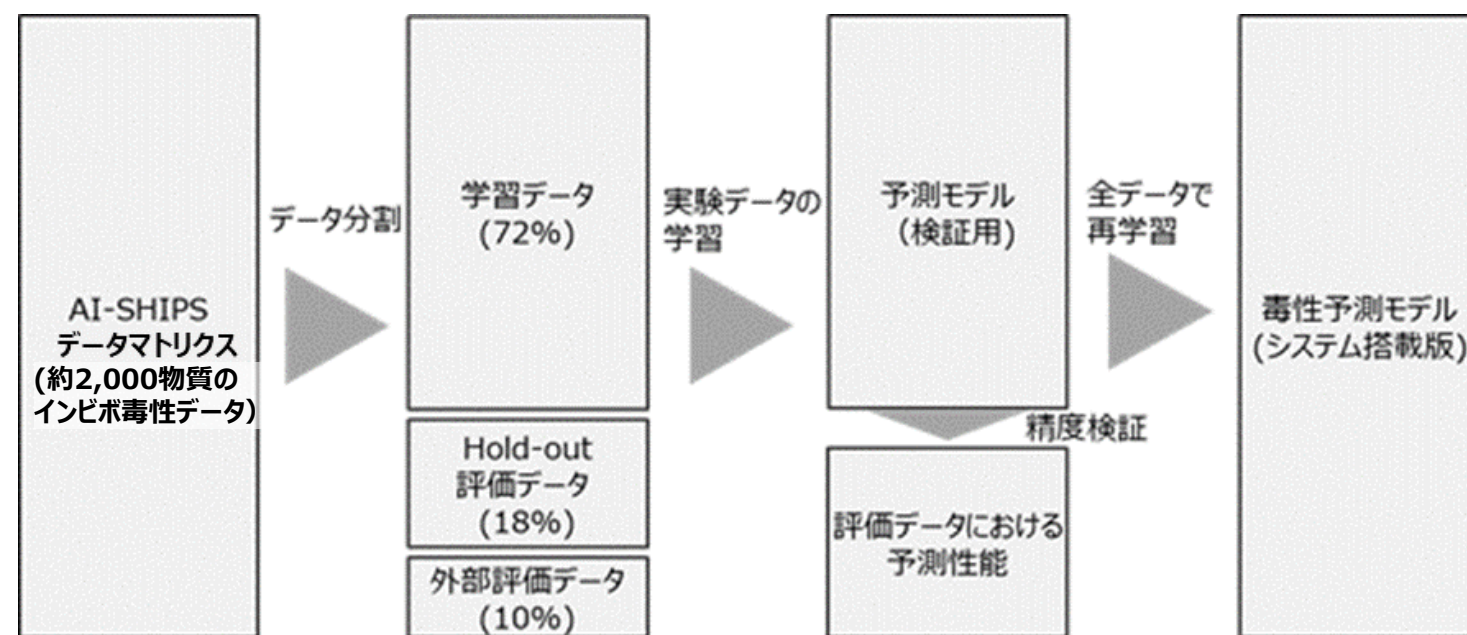
構築した118のモデルのうち、精度評価でbalanced accuracy $\geq$ 0.65を達成した101種のモデルの予測値

D) NOEL $\leq$ 30モデルについては、同じエンドポイントのNOEL $\leq$ 300モデルの予測値を記述子に追加(1個)

【モデル構築方法】

- インビボ毒性データ (約2,000物質)の約10%の化合物を外部評価用、約72%を学習用、約18%をhold-outの評価用とした。
- 予測モデルは複数のアルゴリズム (Random forest、LightGBM、XGBoost) や変数選択、パラメータを学習データで訓練し、hold-outの評価用データを基準に最良のモデルを選択し、外部評価データで汎化性能を確認した。
- 最終的には、外部評価用10%を加えた全データで再学習した。

モデルのトレーニング方法の概要



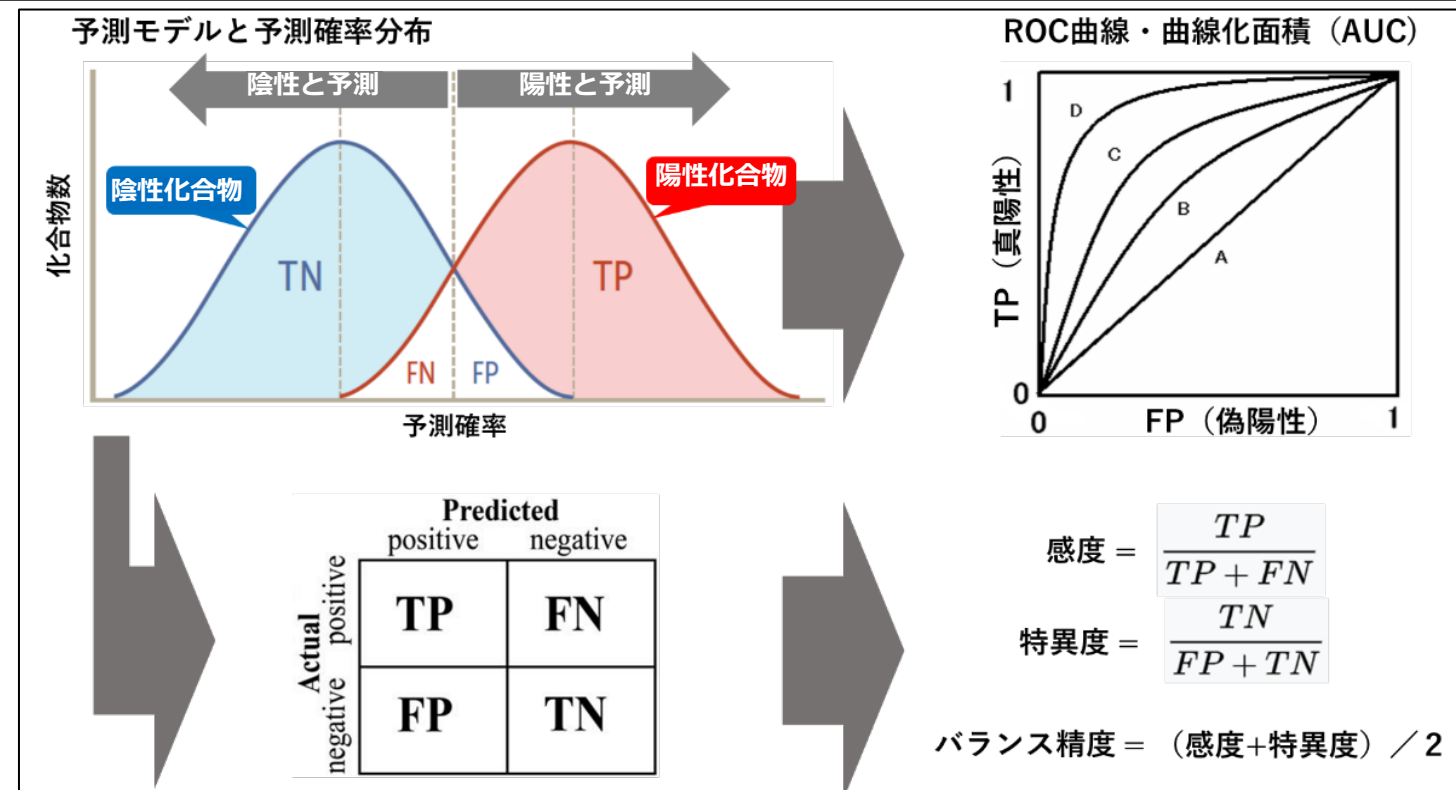
3. 毒性予測 (4)モデル開発 ウ：インビボ毒性予測モデルの構築

モデル評価 (hold-out)

- 評価指標には不均衡データに対して頑健な評価指標である balanced accuracy (BA) を主要な指標として用いた。また、2値分類モデルの一般的な指標としてROC曲線下面積 (area under the curve: AUC)、感度 (Sensitivity)、特異度 (Specificity) も併せて使用した。
- Hold-out評価において、閾値300モデルと閾値30モデルはBA平均でそれぞれ0.727、0.737を示した。

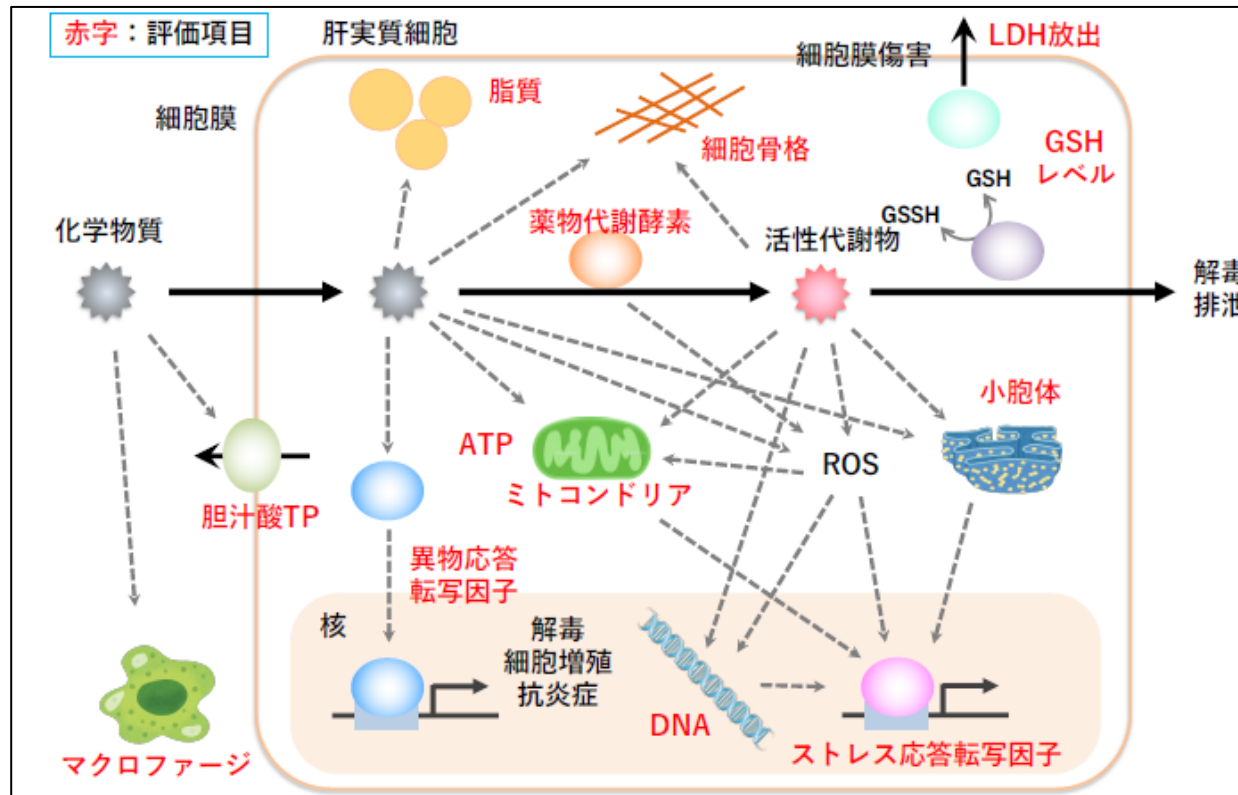
毒性予測モデルのHold-out評価結果

エンドポイント		NOEL≤300モデル				NOEL≤30モデル			
		BA	AUC	Sensitivity	Specificity	BA	AUC	Sensitivity	Specificity
EP_LV01	細胞傷害・炎症	0.738	0.784	0.726	0.749	0.768	0.805	0.708	0.827
EP_LV02	肝機能低下	0.716	0.748	0.669	0.762	0.706	0.716	0.667	0.746
EP_LV03	肝機能亢進	0.755	0.807	0.800	0.710	0.738	0.799	0.833	0.642
EP_LV04	胆管障害	0.720	0.754	0.714	0.725	0.733	0.785	0.556	0.91
EP_LV05	肥大	0.727	0.766	0.746	0.708	0.705	0.771	0.786	0.623
EP_LV06	脂質代謝異常	0.730	0.780	0.730	0.730	0.777	0.788	0.854	0.700
EP_BL01	血液凝固異常	0.729	0.801	0.817	0.640	0.718	0.763	0.947	0.489
EP_BL02	貧血	0.734	0.793	0.802	0.667	0.791	0.824	0.742	0.839
EP_KD01	腎機能障害	0.698	0.759	0.692	0.704	0.701	0.715	0.595	0.807
平均値		0.727	0.777	0.744	0.711	0.737	0.774	0.743	0.731

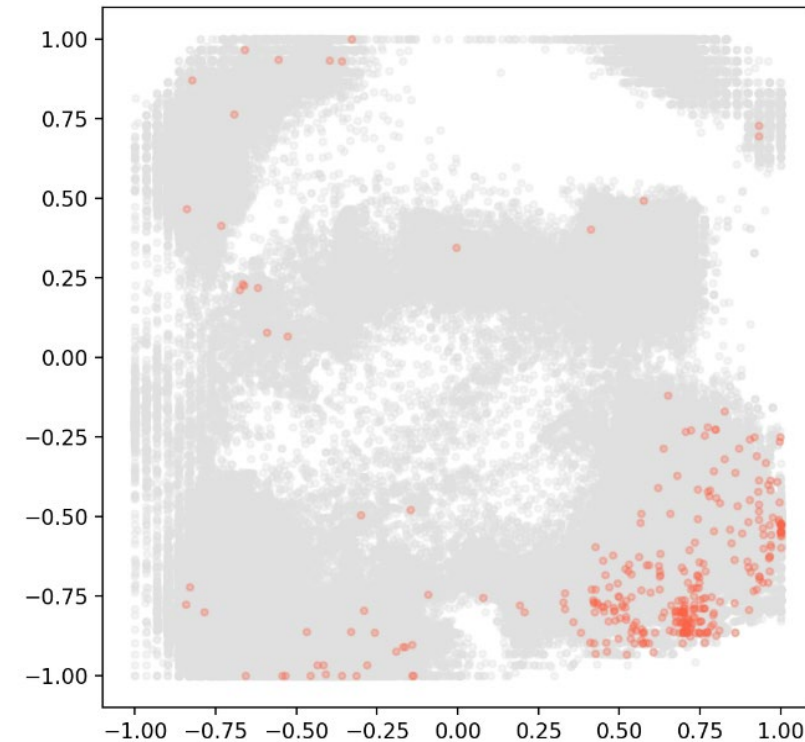


【AI-SHIPSインビトロ実験の種類と被験物質】

- まず肝毒性を対象として、既知の肝毒性情報に基づき肝毒性評価に広く利用されている試験のうち、スループット性が高い試験を選択して、それら網羅的に実施した。
- 腎臓に特異的な細胞毒性を評価するために、ラット腎上皮細胞のNRK-52E細胞を利用したインビトロ試験を実施した。血液毒性に関しては、代謝活性化や酸化ストレスが毒性発現に主に関与していることから、肝毒性評価に使用した試験を利用できると考えた。
- 被験物質は、HESSに収載されているラット28日間反復投与毒性試験結果を有する物質の中から、**物質の多様性（ケミカルスペース上の広がり、右図）、試薬の入手可能性、実験の実施可能性などを踏まえて被験物質を326物質**を選択した。
- 実施した実験の一覧を次ページに示す。



AI-SHIPS統合的毒性予測システムにおけるインビトロ試験の位置づけ



インビトロ試験の被験物質として選択した326物質（赤）のケミカルスペースにおける広がり

評価項目			内容	分子・項目	方法の概要
M I E 関 連	1	薬物代謝酵素	異物の解毒、代謝活性化に関わる酵素との反応性を評価	- ラットP450（7分子） - ヒトP450（11分子種） - UGTs（総活性）	組換え酵素と発光基質(P450-Glo/UGT-Gloシステム)を利用した阻害試験（3濃度）
	2	酸化還元	細胞に対する酸化還元に関する傷害作用を評価	細胞内GSH含量	初代培養ラット肝細胞、HepG2細胞、ラット腎由来NRK-52E細胞を利用した細胞内GSHレベル測定試験（3濃度）
	3	タンパク質反応性	化学物質の反応性評価	Amino acid Derivative Reactivity Assay (ADRA)	システイン、リジン誘導体との反応性評価（1濃度）
	4	胆汁酸トランスポーター	肝毒性発現に関わる胆汁うっ滞影響を評価	- ラットMRP2 - ラットBSEP	蛍光基質とベシクルを利用した阻害試験（1濃度）
	5	核内受容体	異物代謝、エネルギー代謝等に関わる受容体への影響を評価	- ラットAHR - ラット核内受容体 (PPARα, PXR, RXRα, LXRα, FXR)	レポーターアッセイ又は1-ハイブリッドアッセイ（3濃度）
	6	酵素誘導	酵素誘導に関わる誘導体CARへの影響を評価	ラットCYP2B1, CYP3A1, CYP4A1	初代培養ラット肝細胞mRNAレベル測定（1濃度）
K e y e v e n t 関 連	7	細胞小器官	毒性発現に重要なミトコンドリア等の細胞小器官への影響を評価	- 核 - 細胞質（F-actin） - ミトコンドリア - 中性脂肪（TG）蓄積 - リン脂質（PL）蓄積	初代培養ラット肝細胞、HepG2細胞、ラット腎由来NRK-52E細胞を利用した蛍光イメージング（HCA）解析：総蛍光光強度・面積、平均蛍光強度・面積、スポット数等（6濃度）
	8	細胞傷害	細胞に対する傷害作用を評価	- LDHアッセイ（細胞死） - Cell-titerアッセイ（生細胞数）	初代培養ラット肝細胞、HepG2細胞、ラット腎由来NRK-52E細胞を利用した曝露試験（6濃度）
	9-1	酸化ストレス	細胞ホメオスタシスに関わるストレス応答系への作用を評価	Nrf2	多色発光レポーター導入HepG2細胞を用いた経時的（72h）活性評価（6濃度）
	9-2	炎症ストレス		NF-kB	
	9-3	小胞体ストレス		ATF6	
	9-4	DNA損傷ストレス		p53	
	9-5	低酸素ストレス		HIF1	
	10	非実質細胞（マクロファージ細胞）	細胞間クロストークによる間接的な肝障害作用・炎症制御を評価	- AP-1/NF-kB転写活性 - 細胞障害性（WSTアッセイ）	マウスRAW264.7細胞（レポーター安定発現細胞）を用いたレポーターアッセイ並びに、傷害性評価（6濃度）

インビトロ試験結果からのモデルの目的関数の抽出

- 実施した各インビトロ試験で得られる「実験値」は多く、全実験値の予測モデルを構築することは現実的ではない。
- そこで、測定結果の本質を損なわない範囲でパラメータ数を絞り込むことで、モデルの構築数を絞るため、パラメータ数を減らし、最終的に、[103のインビトロ予測モデル構築対象パラメータ（モデルの目的関数）を抽出](#)

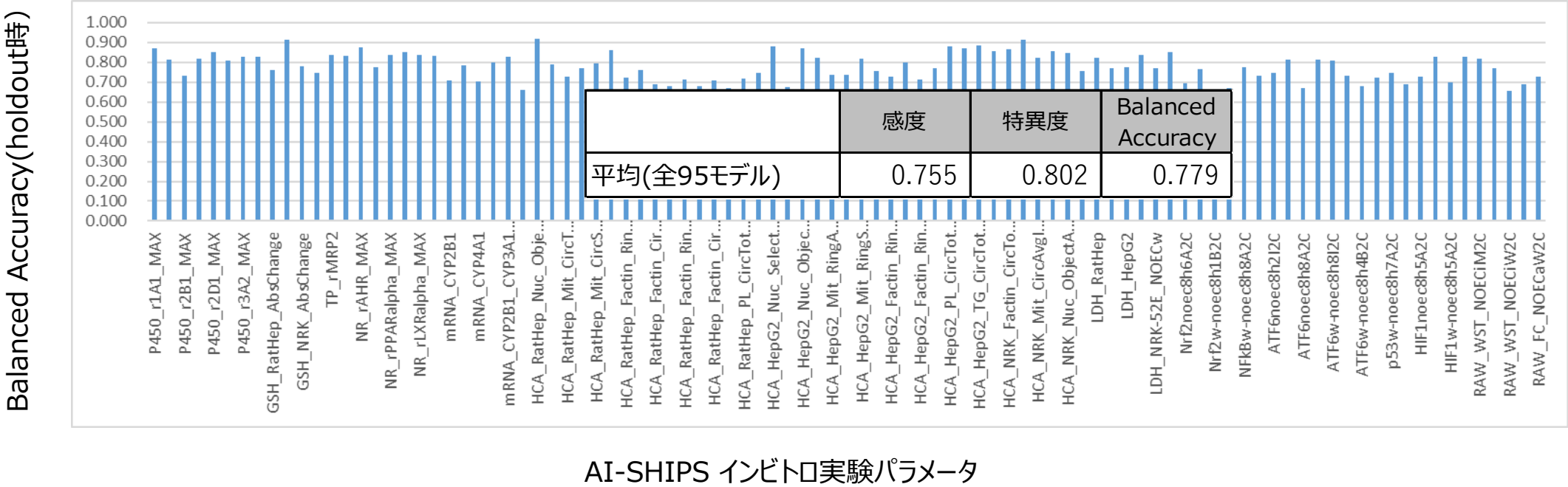
予測モデル構築対象パラメータ（モデルの目的関数）の抽出 例

評価項目と各in vitro 試験で取得した値			パラメータ化（測定結果の本質を損なうことなくパラメータ数を減らす）	予測対象パラメータの数
1. 薬物代謝酵素等反応性評価				
	ラット	P450反応性評価（7分子種、3濃度）	各分子種について、各濃度（0.1 μM, 10μM, 100μMの3濃度）における阻害作用(%)の最大値を採用	21 → 7
7. 細胞小器官評価（HCA）				
	ラット肝細胞	核（Nuc）、ミトコンドリア（Mit）、細胞骨格（Factin）（6濃度）	核、ミトコンドリア、細胞骨格のサイズ、面積、蛍光強度など38の測定項目について、6濃度での結果からNOEC値（影響の出なかった最大の濃度）を算出し、陽性（NOEC値<100）、陰性（NOEC値=100）の分布と器官のバランスを考慮しつつ独立性の高い15個を選定	38×6 → 15
9. ストレス応答シグナル伝達経路に対する影響評価				
	HepG2細胞	酸化ストレス（Nrf2）（6濃度）	Internal control（細胞毒性）、pathway（対象遺伝子活性化及び発現量変動）について、72時間分(約0.5h毎)のデータを8時間区切りの区間ごと区間内area under the curve（AUC）と極大値(Emax)を算出し、6濃度のデータからNOEC（no observed effect concentration）を設定。この内採用する時間区間はインビボ肝毒性との相関ランキング（Mordred記述子と共に相関を計算し、インビトロ記述子の順位を算出）が最も上位になる様にそれぞれ決定した。このNOECをモル濃度では1000 μM、重量モル濃度では50 mg/Lで2値化したバイナリーデータをインビトロ予測対象とした。	144×6→8

合計103

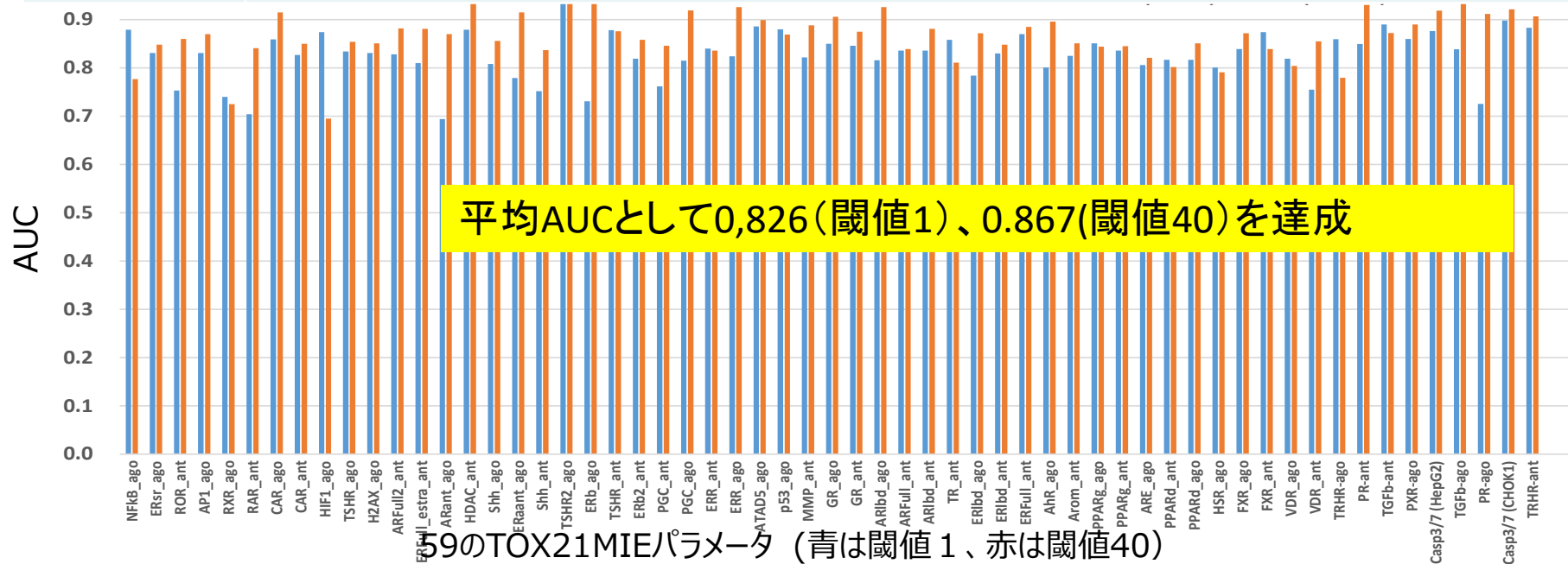
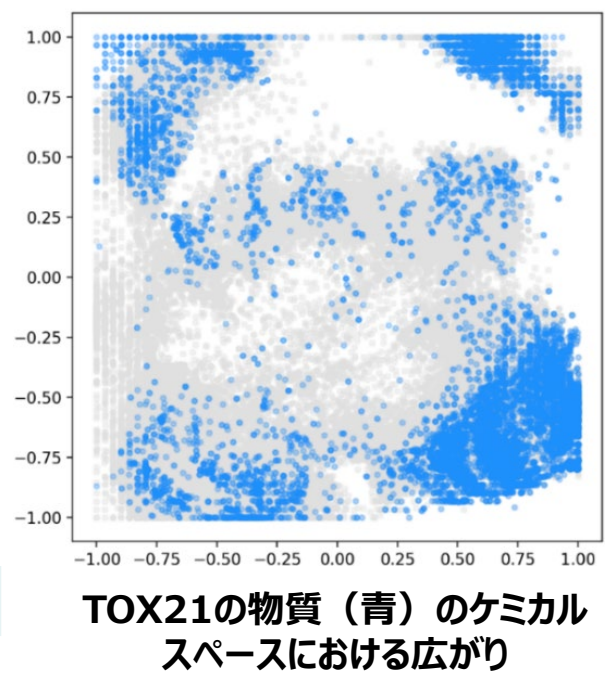
予測モデル構築と精度評価結果

予測対象	インビトロ実験パラメータ（95パラメータ） ※構築数は103であるが、このうちBA>0.65を満たした95モデルをインビボ毒性予測モデル構築に使用
モデル種	2値分類モデル
説明変数	MIE関連のインビトロ実験予測モデル： Mordred記述子(選定された) KE関連のインビトロ実験予測モデル： Mordred記述子(選定された) と Tox21のMIE予測値（ウで開発した予測モデルによる予測値） （一部のモデルは、MorganFingerPrintも使用）
学習データ	インビトロ実験値が取得できた326データ（最終モデルは、外部評価のための32物質も含めた358データで学習したもの）
モデル手法	XGBoost、ランダムフォレスト、LightGBMなど（モデル毎に異なる。複数の手法で試行し最も精度が良かった手法を採用したモデルもある）



■米国Tox21プロジェクト*によって公開されているMIEデータベースから、毒性発現において初期のステップとして重要であるMIE (molecular initiating event) 59種を予測対象として予測モデルを構築した。

予測対象	Tox21の59種のMIE等 各MIEについて、2値化の閾値を変えた2種類のモデルを構築（閾値40以上が活性有りとした場合と、1以上を活性有りとした場合） ※構築数は118(=59*2)であるが、このうちBA>0.65を満たした101モデルをインビボ毒性予測モデル構築に使用
モデル種	2値分類モデル（活性あり／なし（閾値は1または40））
説明変数	Mordred 2D、3D記述子（1,825個）※欠損値があるものや、一定の値となっているもの、他の記述子と相関が高いものなどを削除し、標準化
学習データ	各MIEごとの9,667データ
モデル手法	XGBoost、ランダムフォレスト、LightGBMなどで、予測対象ごとに最も良い精度を得た手法を採用



※Tox21:
2008年から開始している米国国家レベルのプロジェクトで、US-EPA、米国国立衛生研究所(NIH)、米国環境健康科学研究所(NIEHS : NCATS)、米国国家毒性プログラム(NTP)、US-FDA連邦当局間協力で実施している取組。工業製品や消費者製品、食品添加物、環境負荷化学物質10,000物質に及ぶ化学物質に対してインビトロハイスループット試験を行い、800以上の多面的な生物活性プロファイル（アッセイのエンドポイント）を取得。

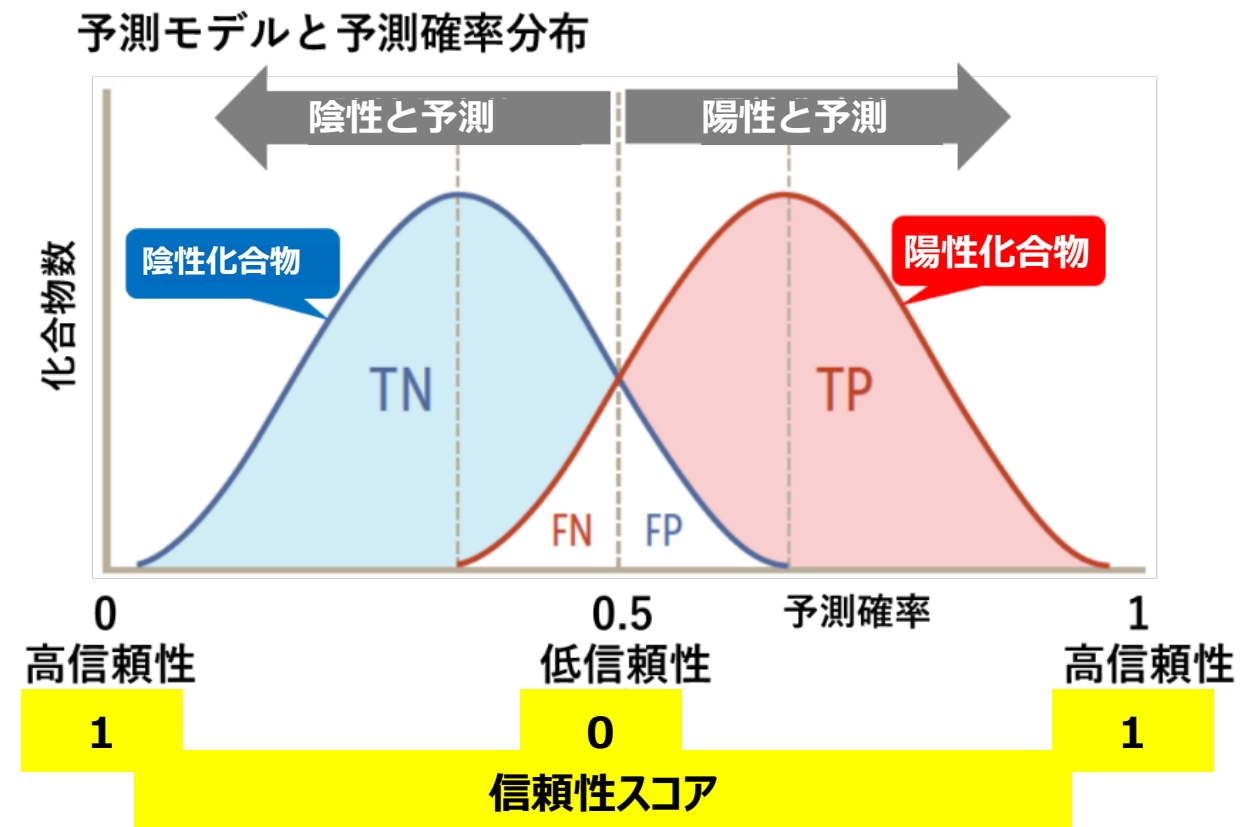
ADの考え方

- QSAR予測に対する信頼性推定の一般的なアプローチとして、(1)モデル構築に使用した化学構造との類似性に基づく手法、および(2)予測確率に基づく手法が知られている。本事業における詳細な検討の結果、(2)が良好な信頼性推定結果を与えることが判明したため、これに相当する信頼性スコアで適用領域 (Applicability Domain; AD) を設定した。
- モデルの出力として得られる0～1の範囲での予測確率(probability)を、最適化したカットオフ値(補正しない場合は0.5)で補正して補正済予測確率を算出し、この補正済予測確率と0.5の差の絶対値の2倍(区間[0,1]に変換するため)を信頼性スコア(reliability score)とした。

$$reliability\ score = 2 \times |corrected\ probability - 0.5|$$

$$corrected\ probability = probability^{-\frac{\log 2}{\log cutoff}}$$

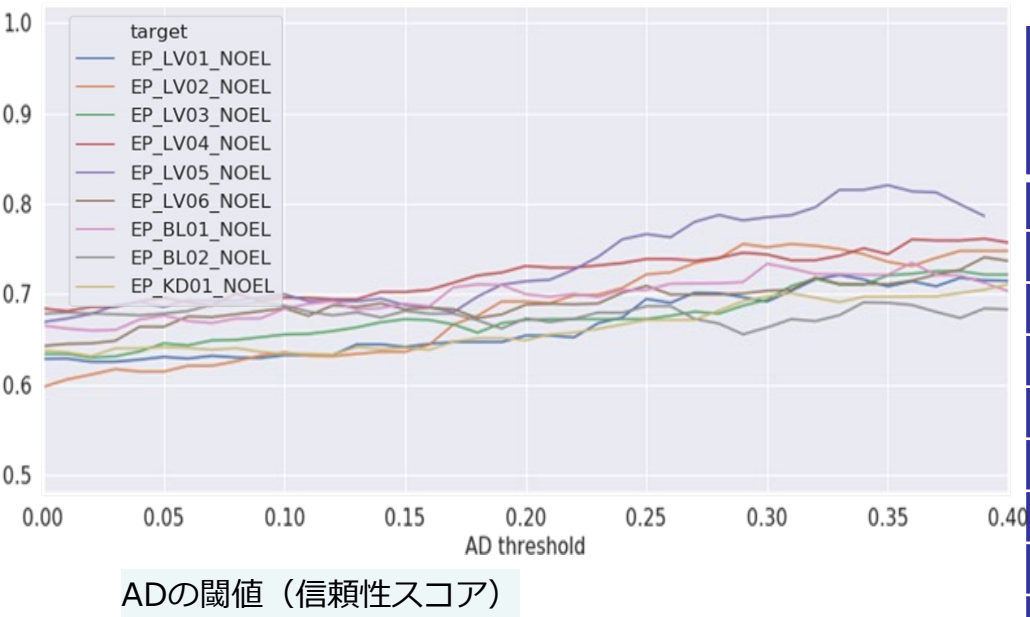
probability: モデルの出力した予測確率 cutoff: 2値化の閾値



モデル評価（外部評価）とAD

- 約2,000のインビボ毒性データから、ランダム選定した10%（ただし、in vitroモデルの外部検証用に選定した32物質を含む）を外部検証に用いた。閾値300モデルの平均BAは0.649、閾値30モデルの平均BAは0.615となり、Hold-outの評価結果と比べるとやや精度が低下。
- 外部検証に使用した物質の中に、予測の信頼度の低い化合物が含まれている可能性があり、予測の信頼性スコアによるapplicability domainを適用することで予測性能が改善されることが期待された。
- 信頼性スコアによる閾値を横軸にとると、右肩上がりに精度が改善される傾向が見られた。ただし、閾値を高くすると物質のカバー率が低下するため、カバー率がある程度高く、精度改善の効果も大きくなる値をADの閾値として設定したところ、AD内の外部評価の予測はhold-outの評価結果(p22)とほぼ同等の予測性能を発揮していることがわかった。

NOEL<300モデルのBalanced Accuracy



予測モデルの外部評価を実施した際に設定したADの閾値（信頼性スコア）と外部評価時の精度

エンドポイント		NOEL≤300モデル			NOEL≤30モデル		
		BA	ADの閾値 (信頼性スコア)	AD内カ バー率	BA	ADの閾値 (信頼性スコア)	AD内カ バー率
EP_LV01	細胞傷害・炎症	0.721	0.330	63.2%	0.749	0.370	47.3%
EP_LV02	肝機能低下	0.756	0.290	57.7%	0.912	0.370	31.9%
EP_LV03	肝機能亢進	0.726	0.370	60.4%	0.727	0.049	40.1%
EP_LV04	胆管障害	0.761	0.390	57.1%	0.671	0.224	71.4%
EP_LV05	肥大	0.821	0.350	34.6%	0.718	0.119	69.2%
EP_LV06	脂質代謝異常	0.741	0.390	48.4%	0.824	0.247	44.5%
EP_BL01	血液凝固異常	0.735	0.360	40.1%	0.637	0.078	50.5%
EP_BL02	貧血	0.691	0.090	85.2%	0.706	0.243	76.9%
EP_KD01	腎機能障害	0.711	0.400	61.0%	0.733	0.396	35.7%
平均値		0.740			0.742		

ADの補足

- 下記の物質は学習データの対象外としているため、ドメイン外となる。
 - 脱塩処理の後で炭素を含まない物質
 - プロジェクトで行ったin vitro試験対象物質に含まれていない元素(B, Si, Al, Si, V, Cr, Mn, Fe, Ni, Cu, Zn, Sr, Zr, Sn, Tr, Pt)を含む物質
 - 化審法の対象外の物質
- AI-SHIPSシステムとして下記の制限がある。
 - 入力化合物はSMILESとして80文字まで、分子量1,000に制限されている。

毒性予測モデルのAD

- 下記を総合的に判断
 - ・ 予測対象化合物の各インビボ毒性予測結果の信頼性スコア
 - ・ 予測対象化合物のケミカルスペース上の位置（インビボ毒性予測の学習データのプロット群の近傍か、離れているか）
 - ・ 予測対象化合物の主要mordred記述子の状況（学習データの最小、最大値の間に入っているか）

全選択

非表示

全表示

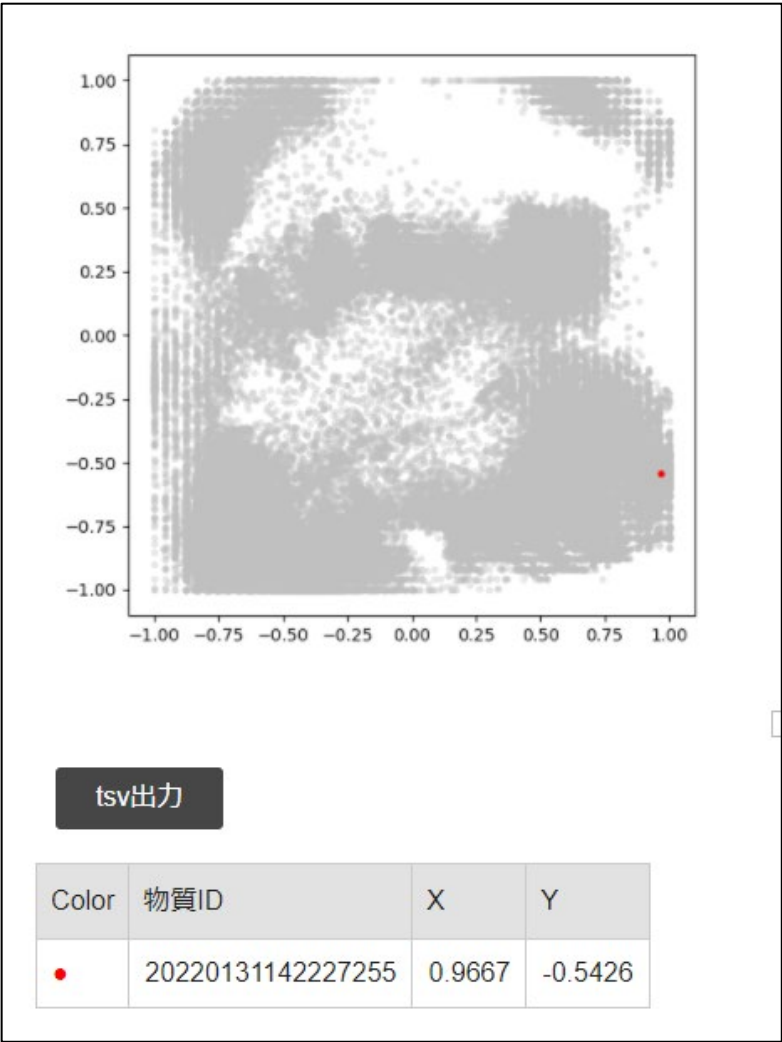
フィルタ

☒ 陰性 ☒ 陽性

信頼値 0

再表示

分類		入力物質	
化学構造			
物質ID/ARN		物質ID/ARN	20220131142227255
全身毒性		NOEL	N/A
試験条件		最大用量	N/A
データベース			N/A
肝機能低下	試験値	NOEL(mg/kg/day)	N/A
	NOEL≤30モデル	予測結果	陰性 Mechanism
		信頼性スコア	0.0627
	NOEL≤300モデル	予測結果	陽性 Mechanism
		信頼性スコア	0.1201
肝機能亢進	試験値	NOEL(mg/kg/day)	N/A
	NOEL≤30モデル	予測結果	陽性 Mechanism
		信頼性スコア	0.0117
	NOEL≤300モデル	予測結果	陰性 Mechanism
		信頼性スコア	0.2694
胆管障害	試験値	NOEL(mg/kg/day)	N/A
	NOEL≤30モデル	予測結果	陽性 Mechanism



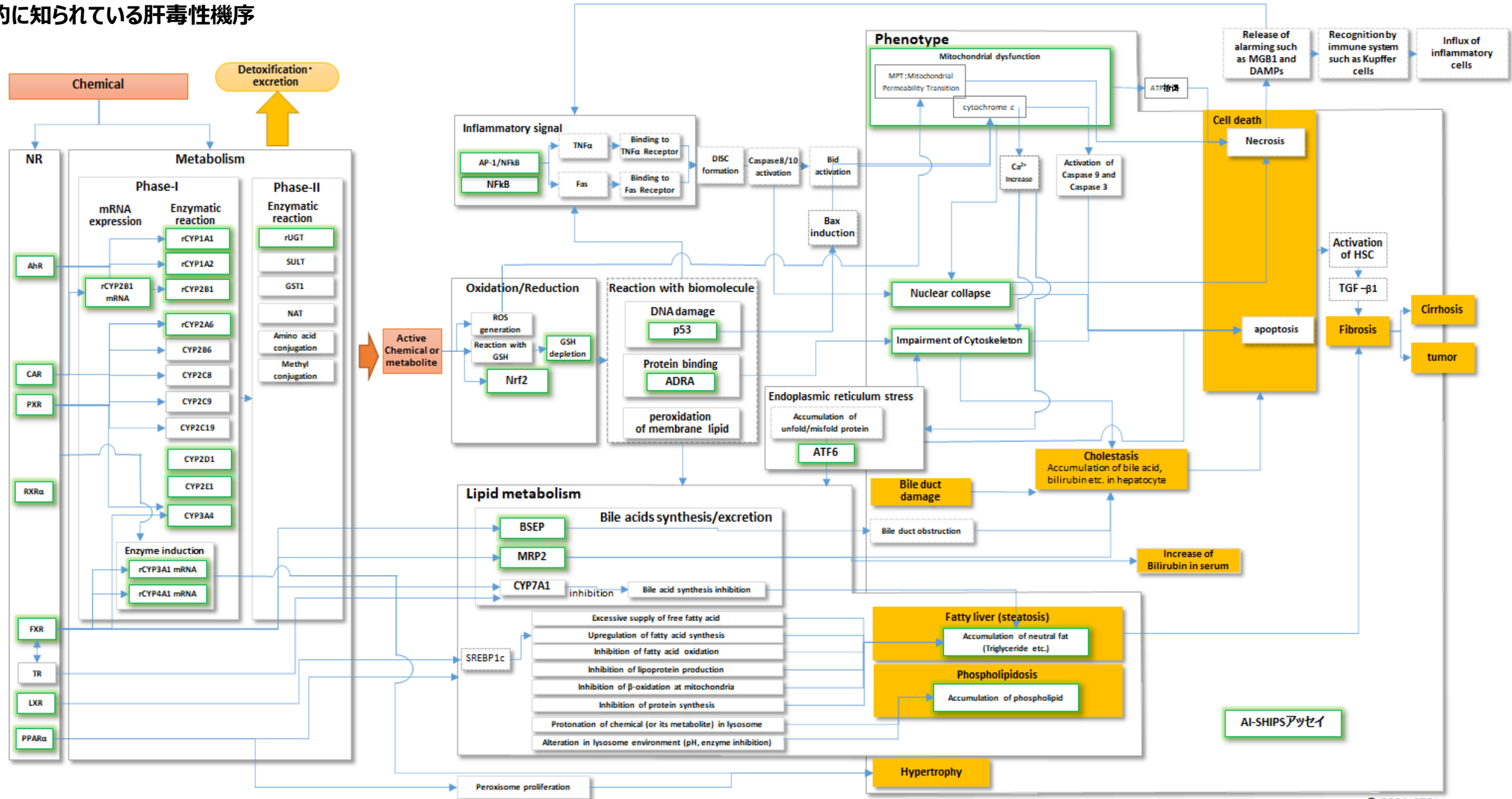
AI-SHIPS 統合的毒性予測システム ユーザーシステム			
CS画面			
Applicability Domain			
物質ID		20220131142227255	
化学構造			
Descriptor	Max	Min	value
MW_2D	2284.0546	31.0422	192.0374
AMW_2D	208.9804	4.3586	10.6687
SLogP_2D	37.8040	-15.2306	2.0286
SMR_2D	696.5154	0	29.3760
TPSA_3D	740.9473	0	213.2725
nHBAcc_2D	38	0	0
nHBDon_2D	21	0	0
nRot_2D	112	0	0
RotRatio_2D	0.9091	0	0
nAcid_2D	8	0	0
nBase_2D	8	0	0
apol_2D	422.3382	4.1728	17.3628
bpol_2D	296.4017	0	12.6972
nAromAtom_2D	80	0	0
nAromBond_2D	82	0	0

参考資料

- i. 毒性発現メカニズムの整理
- ii. AI-SHIPSインビトロ試験の概要

- 細胞におけるマイクロアレイによる遺伝子発現解析および文献調査に基づき、肝毒性メカニズム情報の整理を実施し、肝毒性に関する一般的なメカニズムを整理した。この結果は、AI-SHIPS統合的毒性予測システムの機序情報の表示に役立てた。
- 化学物質によって発現する毒性の機序は以下の4段階に大別される。
 - ① 標的組織への輸送
 - ② 細胞内分子との反応または細胞内微小環境の変化
 - ③ 上記に起因する細胞内シグナル、細胞機能または細胞や細胞小器官の構造変化
 - ④ 修復と適応過程
- 「①標的組織への輸送」の前後において毒性を発現する物質の消去や解毒が行われる。一般的に、毒性物質の解毒には第I相及び第II相の薬物代謝酵素が重要となる。この第I相の主要なものがシトクロムP450（CYP）であり、第II相ではUGT（UDP-glucuronosyltransferase）やGST（Glutathione-S-transferase）等の転移酵素がある。例えば、GSTは求電子的な物質と生体内にあるグルタチオンと反応させる（グルタチオン抱合）ことで解毒が行われる。この他の解毒としては、加水分解、酸化等がある。第I相及び第II相の薬物代謝酵素の誘導にはAhR（Aryl Hydrocarbon Receptor）や種々の核内受容体（CAR、PXR、FXR等）が関与している。この解毒の工程において、求電子物質（例：アルデヒド、エポキシド）、求核物質（例：シアン化合物、一酸化炭素）、フリーラジカル、酸化還元活性物質等の毒性を発現する物質が生成することも多い。
- このようにして生成した物質あるいは親化合物が標的組織に輸送されると、次の段階として「②細胞内分子との反応」として、DNA、生体内タンパク質、脂質を主な標的とした反応が起こる。これら反応には、共有結合を起こす反応、受容体や酵素等への結合、酸化・還元等があり、こうした反応の結果として細胞内分子の機能が変化する。変化の種類には、活性化、阻害、破壊（例：生体膜のリン脂質の過酸化による）、免疫応答（共有結合することでハプテンとなることによる）がある。一方、細胞内分子とは反応せず、「②細胞内微小環境の変化」を起こさせる場合もある。例えば、ATP合成に必要な外向きH⁺濃度の勾配消失等がある。
- こうした変化の後に③及び④の工程へと進み毒性が発現する。

一般的に知られている肝毒性機序

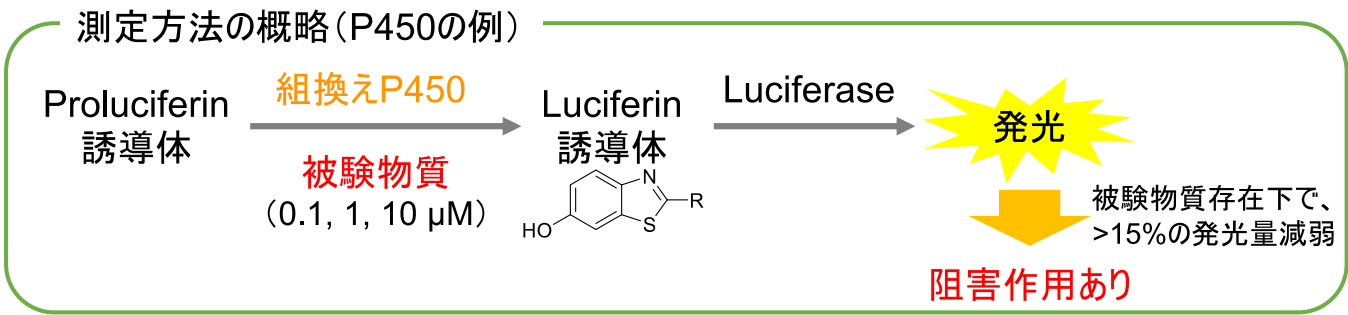


本事業でインビトロ試験を実施した部分は図中の緑色で囲んだ部分

薬物代謝酵素試験に関しては、創薬スクリーニング等でもよく用いられている発光基質を利用したハイスループット評価系を活用した。通常、これら試験は薬物代謝酵素の阻害作用の評価に利用されている。肝毒性を考慮した試験では、代謝に伴う反応性代謝物の測定がしばしば行われているが、それらの試験では代謝物の構造を決定する必要があったり、放射性物質で標識した基質が必要であったりすることから、本事業のように多種多様な被験物質を対象とする評価には適切な試験系とは言えない。そこで、酵素阻害の多くは競合的阻害で起こること、反応性代謝物は肝毒性関連タンパク質だけでなく薬物代謝酵素自身とも結合して活性を阻害するケースが多いことから、本事業では阻害試験を応用して薬物代謝酵素との反応性を評価することとした。実際にはラット又はヒト組換えP450 (Corning) とP450-Glo assayキット (Promega) を用い、ラット7分子種 (rCYP1A1、rCYP1A2、rCYP2B1、rCYP2C6、rCYP2D1、rCYP2E1、rCYP3A2) およびヒト11分子種 (hCYP1A1、hCYP1A2、hCYP1B1、hCYP2A6、hCYP2B6、hCYP2C8、hCYP2C9、hCYP2C19、hCYP2D6、hCYP2E1、hCYP3A4) に対する被験物質の阻害作用を測定した。使用するP450-Glo基質、P450特異的阻害剤 (陽性対照物質) 、反応条件は分子種ごとに決定した。

阻害作用については、溶媒対照群の酵素活性を100%としたときの被験物質存在下における残存活性 (%) を算出することで評価した (図 17) 。
UGTの反応性に関しては、ラット肝ミクロソームを酵素源として、UGT共通基質である6-hydroxy-4-methyl-2-benzothiazolecarbonitrileを用いた評価系を利用してUGT活性に対する被験物質の阻害作用を測定した。

いずれも、化学発光値はルミノメーターを用いて測定した。P450試験では阻害により発光強度が減弱し、UGT試験では阻害により発光強度が増強する。
また、いずれも0.1、1.0、10 μMの3濃度で評価した。



発光基質を利用したP450阻害試験の概要

初代培養ラット肝細胞、HepG2細胞、ラット腎上皮細胞のNRK-52E細胞を用いて、細胞小器官影響を蛍光イメージング技術に基づくハイコンテンツ解析（HCA解析）を利用して評価した。この評価では、被験物質暴露後に対象とする細胞小器官と特異的に結合する蛍光色素で細胞を処理し、その蛍光を蛍光顕微鏡プレートリーダーであるCellInsight™ CX5 High-Content Screening (HCS) Platform（Thermo Fisher Scientific）で定量することで、各細胞小器官のサイズや含量の変化を評価する。

本事業では、細胞ごとに確定したプロトコルに従って核をHoechst33342、細胞質（F-アクチン）をAlexa Fluor 488 Phalloidin、ミトコンドリアをMitoTracker Orange（いずれもThermo Fisher Scientific）で染色し、HCA装置での測定ではチャンネル1（Ch1）：核（波長：386 nm付近）、チャンネル2（Ch2）：ミトコンドリア（波長：549 nm付近）、チャンネル3（Ch3）：細胞質（波長：485 nm付近）に設定して撮影を行った。

脂質蓄積評価（中性脂肪、リン脂質）については、細胞ごとに確定したプロトコルに従ってHoechst・LipidTox_neutral混合溶液で染色し、HCA装置での測定ではCh1：核（波長：386 nm付近）、Ch2：中性脂肪（波長：549 nm付近）、Ch3：リン脂質（波長：485 nm付近）の設定にて撮影を行った。いずれも、被験物質の濃度は、0、0.3、1.0、3.0、10、30、100 μMとした。

初代培養ラット肝細胞
HepG2細胞
ラットNRK-52E細胞

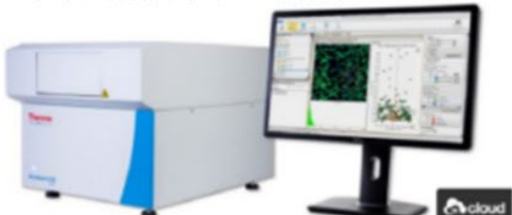


被験物質(約360物質)
6濃度 (0.3-100 μ M)
48時間暴露

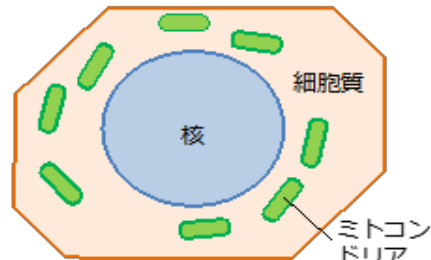
ハイコンテンツ解析(HCA解析)

細胞小器官

核、細胞質(F-actin)、ミトコンドリア
中性脂肪、リン脂質

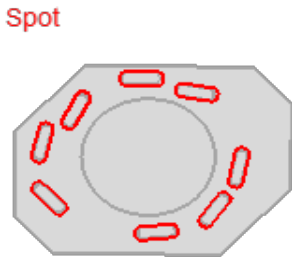
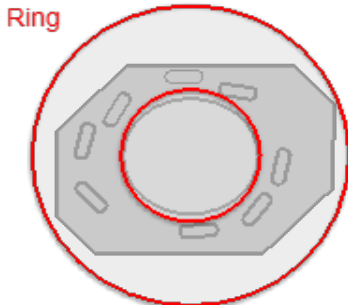
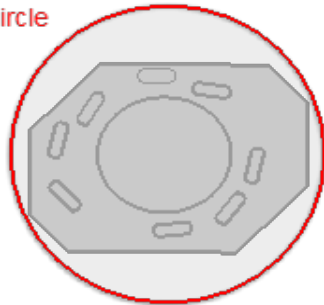


細胞小器官イメージングの概略



略称	定義
Count	数 (Spot数)
Inten	蛍光強度 (Intensity)
Area	蛍光面積
Var	全ピクセルの標準偏差
Size	直径
P2A	円形度：4π×面積÷周囲長 ²
LWR	長さ・幅の比
Avg	全ピクセルの平均 (細胞あたり)
Total	全ピクセル

測定範囲・対象
Circle



* CircleやRingは隣接の細胞と重なりうるが、自動細胞認識により設定される細胞境界が優先される

RingSpot：Ring内に含まれるSpot
CircSpot：Circle内に含まれるSpot

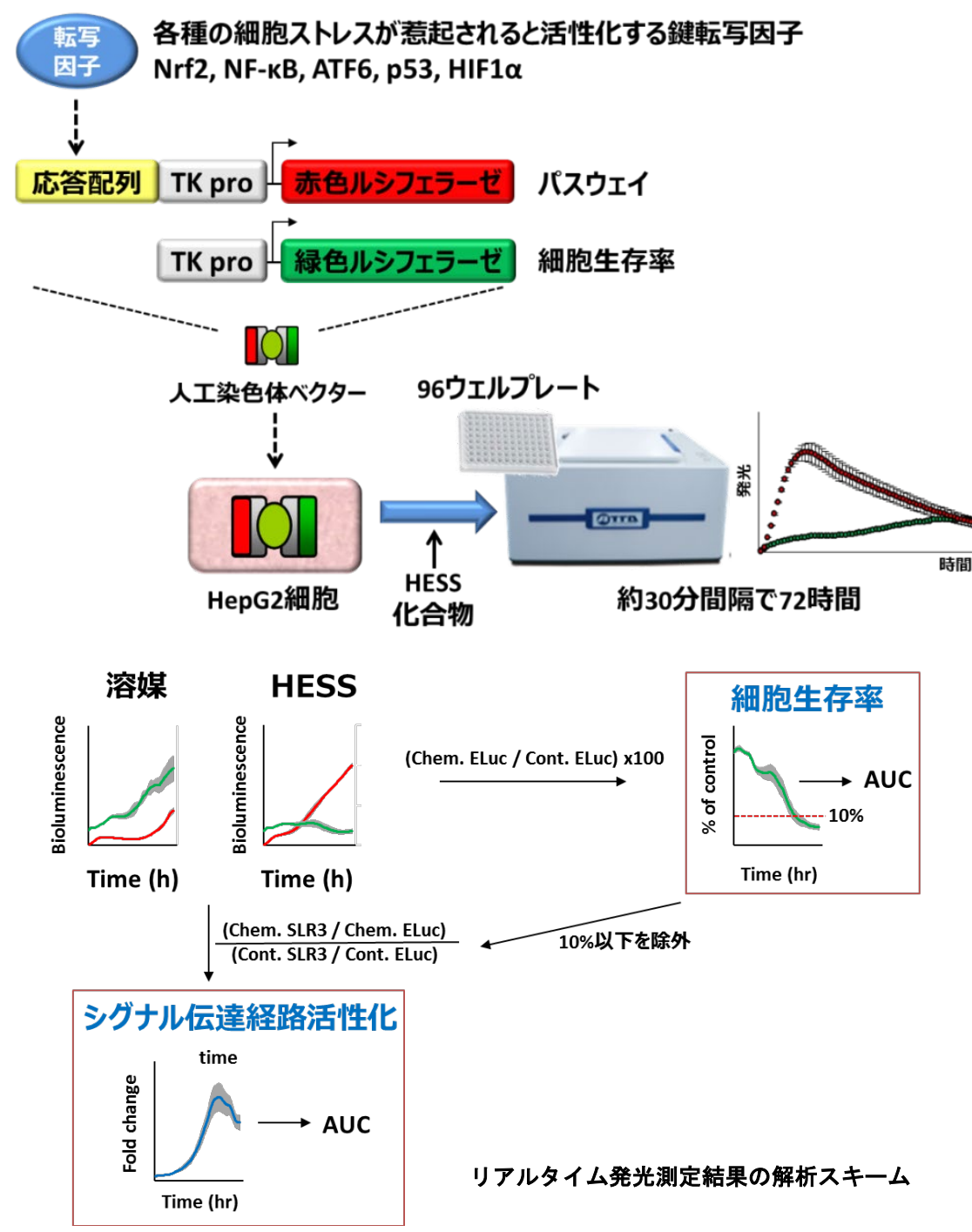
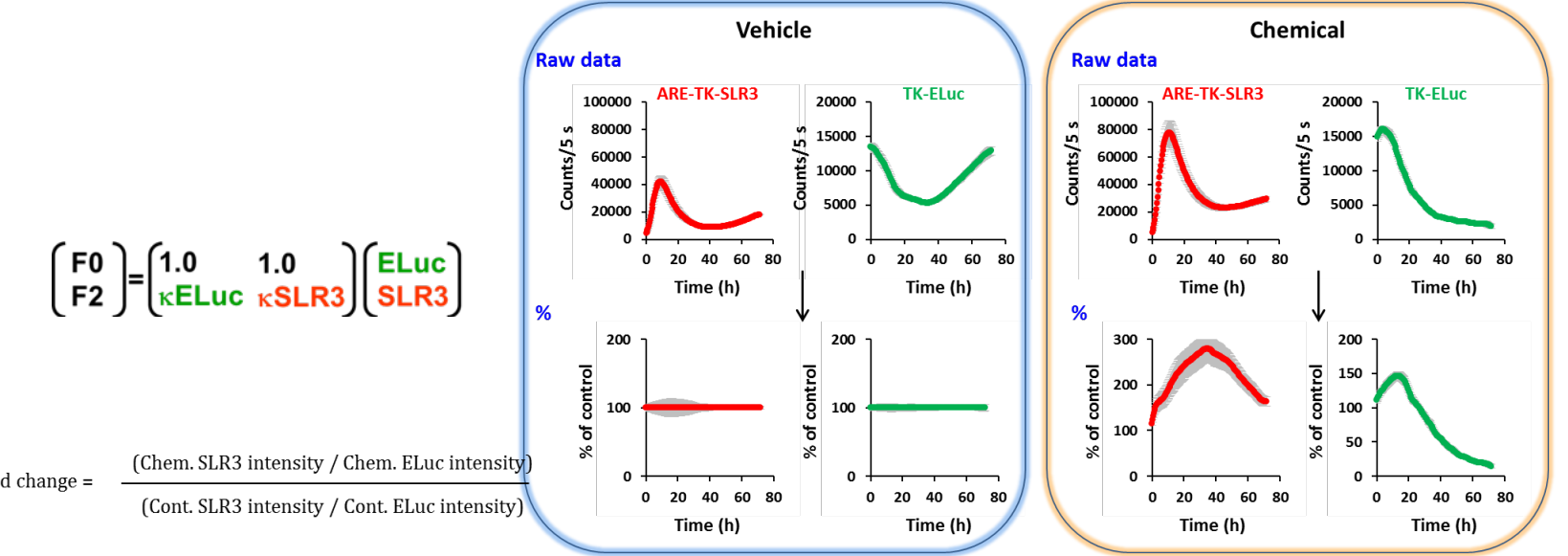
Ch1～Ch3で50程度のデータを選択して解析に使用。

参考資料 (ii) AI-SHIPSインビトロ試験の概要 (3) 多色リアルタイム発光測定によるストレス応答シグナル伝達解析

多色発光レポーター導入HepG2細胞を用い、化学物質が酸化ストレス応答(Nrf2-ARE)、炎症ストレス応答 (NF-κB)、小胞体ストレス応答 (ATF6-ERSE)、DNA損傷ストレス応答 (p53) 及び低酸素ストレス応答 (HIF1a) のシグナル伝達経路に与える影響をリアルタイム発光測定により解析した。確定したプロトコルに従い、96ウェルプレートにHepG2細胞を播種したのち、陽性対照物質、陰性対照物質、所定濃度 (公比1.2~2の6濃度) の化合物に交換し、R62ロングパスフィルター存在下 (F2値) および非存在下 (F0値) で1ウェルあたり5秒間、約30分間隔で72時間測定した。SLR3およびELucの発光強度はF0およびF2値から右の式により算出した。

算出したELucおよびSLR3の発光値からフーリエ変換解析により装置ノイズを除去した後 (図、上段)、溶媒対照の各測定ポイントでの発光強度を100%として補正した被験物質暴露区の相対発光強度を算出した (図、下段)。

ストレス応答経路に及ぼす影響の評価は、被験物質を暴露したHepG2細胞のELucの相対発光強度の積算値 (area under the curve、AUC) を細胞生存率とし、溶媒対照および被験物質暴露区のSLR3およびELucの値を用い、次式で算出したfold change値のAUCをストレス応答経路への影響 (活性化或いは不活性化) として数値化した (図)。



プロトコル文書名称

- 【静1-1】ラット及びヒトシトクロムP450のインビトロ阻害評価試験
- 【静1-2】ラット及びヒトグルクロン酸転移酵素のインビトロ阻害評価試験
- 【静3-1】ラットMRP2のインビトロ阻害評価試験
- 【静3-2】ラットBSEPのインビトロ阻害評価試験
- 【静4-1】ラット及びヒトAh受容体活性化作用の培養細胞を用いた評価試験
- 【静4-2a】ラットPXR活性化作用の培養細胞を用いた評価試験
- 【静4-3a】ラットPPAR α 活性化作用の培養細胞を用いた評価試験
- 【静4-4】ラットRXR α 活性化作用の培養細胞を用いた評価試験
- 【静4-5】ラットLXR α 活性化作用の培養細胞を用いた評価試験
- 【静4-6】ラットFXR活性化作用の培養細胞を用いた評価試験
- 【静4-7】ラット肝細胞を用いたCAR活性化作用の評価試験
- 【静5-6】ラット肝細胞に対する化学物質の細胞傷害性評価
- 【静6-1a】ラット肝細胞における化学物質影響評価のためのハイコンテンツ解析
- 【静6-1b】ラット肝細胞における化学物質影響評価のためのハイコンテンツ解析—中性脂肪・リン脂質蓄積評価—
- 【静5-5】ラット肝細胞を用いた化学物質による細胞内GSHレベル変動の評価
- 【静5-1】HepG2細胞に対する化学物質の細胞傷害性評価
- 【静6-2a】HepG2細胞における化学物質影響評価のためのハイコンテンツ解析—ミトコンドリア・細胞骨格評価—
- 【静6-2b】HepG2細胞における化学物質影響評価のためのハイコンテンツ解析—中性脂肪・リン脂質蓄積評価—
- 【静5-3】HepG2細胞を用いた化学物質による細胞内GSHレベル変動の評価
- 【静5-2】NRK-52E細胞に対する化学物質の細胞傷害性評価
- 【静6-3】ラット腎NRK-52E細胞における化学物質影響評価のためのハイコンテンツ解析—ミトコンドリア・細胞骨格評価—
- 【静5-4】ラット腎NRK-52E細胞を用いた化学物質による細胞内GSHレベル変動の評価
- 【産1-1】2色ルシフェラーゼ導入MI-MAC-HepG2細胞を用いたリアルタイム発光測定によるHESS化合物毒性試験プロトコル（酸化ストレス応答）
- 【産1-2】2色ルシフェラーゼ導入MI-MAC-HepG2細胞を用いたリアルタイム発光測定によるHESS化合物毒性試験プロトコル（炎症応答）
- 【産1-3】2色ルシフェラーゼ導入MI-MAC-HepG2細胞を用いたリアルタイム発光測定によるHESS化合物毒性試験プロトコル（小胞体ストレス応答（ATF6-ERSE経路））
- 【産1-4】2色ルシフェラーゼ導入MI-MAC-HepG2細胞を用いたリアルタイム発光測定によるHESS化合物毒性試験プロトコル（DNA損傷応答（P53経路））
- 【産1-5】2色ルシフェラーゼ導入MI-MAC-HepG2細胞を用いたリアルタイム発光測定によるHESS化合物毒性試験プロトコル（低酸素ストレス応答（HIF1経路））
- 【産2】マクロファージ細胞（RAW-Blue細胞）を用いたHESS化合物毒性試験プロトコル
- 【静1-1】ラット及びヒトシトクロムP450のインビトロ阻害評価試験
- 【昭1-1】化学物質のヒト結腸癌由来細胞株 (Caco-2 細胞) またはラット腸由来細胞株 (IEC-18 細胞) を用いる腸粘膜透過性評価
- 【昭2】化学物質のin vitroヒト肝細胞系を用いる代謝消失と酵素誘導

ともに挑む。ともに実る。

MIZUHO

