

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)  
終了時評価 補足説明資料

2023年1月17日

製造産業局化学物質管理課化学物質リスク評価室

I . 事業の概要

II . 評価検討会の評価

<p><b>事業の目的</b></p>	<p>蓄電池材料、有機EL材料、有機薄膜太陽電池材料といった、次世代省エネ型電子デバイス等に省エネ等革新的機能を付与するイノベーションを促進させるため、機能性化学物質の安全性評価に必要な動物を用いた反復投与毒性試験を、AIを活用したコンピュータシミュレーションに代替する高速・高効率な安全性予測手法を開発することで、機能性化学物質の開発における安全性評価コスト（費用・期間）を削減する。 その結果、材料メーカーの提案力の強化、ユーザーとの摺り合わせ時間の短縮化、開発コストの大幅低減、新製品（省エネ型デバイス）開発の加速化及び低炭素社会の実現を目指す。</p>						
<p><b>類 型</b></p>	<p>複数課題プログラム / <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">研究開発課題（プロジェクト）</span> / 研究開発資金制度</p>						
<p><b>実施期間</b></p>	<p>2017年度～2021年度（5年間）</p>	<p><b>会計区分</b></p>	<p>一般会計</p>	<p>／ <span style="border: 1px solid black; padding: 2px;">エネルギー対策特別会計</span></p>			
<p><b>評価時期</b></p>	<p>事前評価：2016年、中間評価：2020年、終了時評価：2022年</p>						
<p><b>実施形態</b></p>	<p>国からの直執行（省エネ型電子デバイス材料の評価技術の開発事業への委託事業）</p>						
<p><b>プロジェクトリーダー</b></p>	<p>国立大学法人奈良先端科学技術大学院大学 船津公人 教授</p>						
<p><b>執行額 （百万円）</b></p>	<p><b>2017FY</b></p>	<p><b>2018FY</b></p>	<p><b>2019FY</b></p>	<p><b>2020FY</b></p>	<p><b>2021FY</b></p>	<p><b>総執行額</b></p>	<p><b>総予算額</b></p>
	<p>206</p>	<p>400</p>	<p>422</p>	<p>473</p>	<p>469</p>	<p>1970</p>	<p>2000</p>

# 1. 本事業の政策的位置づけ／背景について

- 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

- インビボ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、化学構造とインビボ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でない毒性以外は、**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

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

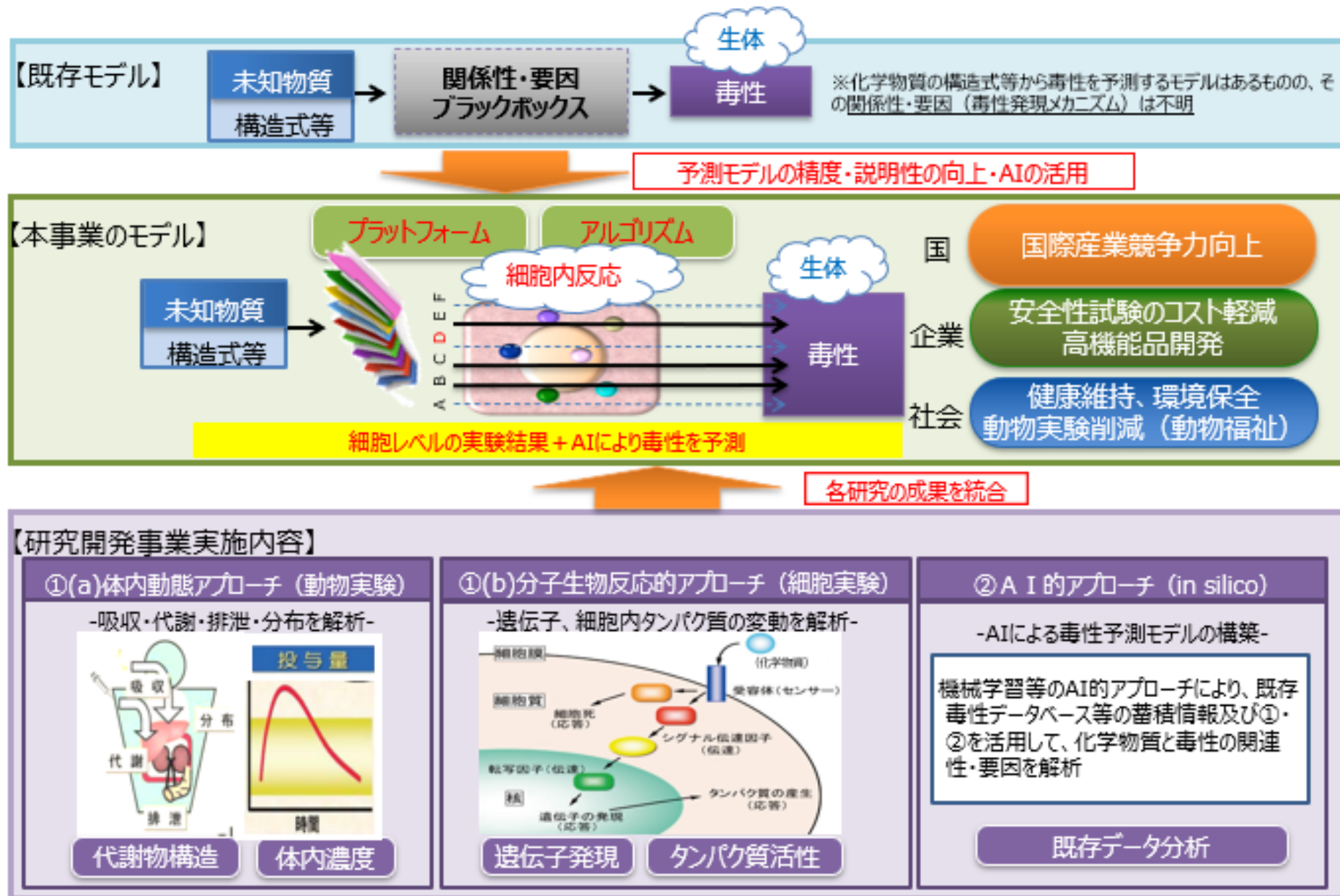
- 実用化には、**毒性発現機序情報を提示可能な予測モデル**が必要
- **我が国が有する毒性試験データ**、AI技術を活用し、コンピュータ（インシリコ）モデル化
  - 毒性発現に關与する細胞内イベントのインビトロ試験データ（Tox21データの活用、プロジェクトで実測）から、細胞内イベント予測モデルを構築
  - 化学構造情報だけでなく、毒性発現関連細胞内イベント情報を利用したインビボ毒性予測モデルを構築

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ボ毒性予測システム**を構築

- 機能性化学物質は、高性能電池や次世代半導体等のイノベーションの源泉であり、優れた機能性を有する化学物質をいかに迅速に、効率的に開発するかが我が国産業の競争力強化に向けた課題である。一方、機能性と毒性は不可分であり、**機能性化学物質の開発段階から安全性を効率的に評価していく必要**がある。また欧米では、**化学物質の研究開発コストの削減**及び**動物福祉**の観点から、動物を使った従来の毒性試験に替わる試験（**インビトロ試験及びインシリコ手法**）の**開発**が進展している。
- しかし、一般的に、化学系企業には個社で高効率な安全性予測手法を開発するだけの**人材や資金等に十分な余裕はなく、また試験機関に既存事業を代替する予測手法の開発に対するインセンティブが働き難い**なか、**安全性予測手法の開発を業界共通の基盤として、毒性データを保有する国及び化学系企業、毒性発現メカニズム研究等に関する知見を有する大学・研究機関が共同して実施する必要**があることから、国が取り組むべき事業である。
- また、機能性材料の開発加速化による競争力強化、化学物質管理の推進、我が国及び世界の重要課題であるエネルギー・資源問題の解決を両立する事業であり、優先度が高い。

海外	OECD QSAR ツールボックス	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ カテゴリーアプローチによる評価を支援するソフトウェアで、行政、民間での利用を目的にOECDの支援の下、無料で公開</li> <li>■ 最新のVer.4.5では、新規データベースとしてヒト皮膚感作性 NICEATM/BfRには1377物質が追加。また、光感作性データベースには新規で73物質が追加</li> </ul>
	EU TOXRisk	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ 「ブラックボックス」である動物試験から、細胞反応と毒性の因果関係の機構的理解に基づく毒性予測を目指したプロジェクト（2016年～2021）</li> <li>■ 主なエンドポイントは、反復投与毒性（肝臓、腎臓、肺、神経系）、生殖発生毒性</li> <li>■ 成果を活用した商業化プラットフォームがあり、有料で使用可能</li> </ul>
	米国 Tox21およびToxCast	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ 2008年から開始している米国の国家レベルのプロジェクト</li> <li>■ 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）に基づくインシリコ毒性予測モデルを開発することを目指す</li> </ul>
国内	有害性評価支援システム統合プラットフォーム（HESS）	<ul style="list-style-type: none"> <li>■ 化審法反復投与毒性試験を中心に亜急性反復投与毒性試験の各検査項目のNOEL/LOEL情報のデータベースを整備</li> <li>■ カテゴリーアプローチによる未試験物質の評価を支援する機能</li> </ul>

人工知能技術や毒性学等の研究成果及びこれらの応用に関するノウハウや知財を有する国・研究機関・大学・企業等を結集し、民間だけでは成し得ない産業界の共通基盤として運用可能な次世代の有害性予測手法を開発する。この研究開発目標を達成するため、以下の研究開発項目を実施。



# 4 - 1. 研究開発の全体構成

研究開発項目と、実施者は下記のとおり。

研究開発項目	実施者
① 毒性発現メカニズムに基づく毒性評価技術の開発 (a) 薬物動態モデル等を活用した化学物質の体内動態評価技術の開発	-
① 毒性発現メカニズムに基づく毒性評価技術の開発 (b) 細胞の化学物質応答性評価を基盤とする毒性評価技術の開発	インビトロ試験（生体から取り出した細胞等を用いて行う試験）系の確立と実験の実施（薬物動態、核内受容体等）
	インビトロ試験系の確立と実験の実施（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の解析）
	インビトロ試験系の確立と実験の実施(タンパク質反応性ADRA)および網羅的解析並びに文献調査による機序情報の整理
② 人工知能を活用した予測モデルの開発（生体レベルでの毒性評価・予測を実現する情報技術の開発）	インビトロ試験の予測モデルの構築 インビボ予測（生体内での反応の予測）モデルの構築
	AI- SHIPS統合的毒性予測システムの構築

※東京大学(2017～2020)、奈良先端科学技術大学院大学(2021)はマネジメント機関として、全研究開発項目にかかわる。



## 研究開発項目① 毒性発現メカニズムに基づく毒性評価技術の開発

## (a) 薬物動態モデル等を活用した化学物質の体内動態評価技術の開発

## 1) 目標

ラットとヒトにおける薬物代謝や体内動態の種差に関する研究、並びにヒト肝移植マウス等を利用したヒトの生理学的薬物動態 (PBPK) モデルの構築等を行う。これらの解析と研究開発項目②により、既存のラット毒性試験情報を有効活用し、ラットにおける毒性予測のヒトへの外挿手法ならびに化学物質のヒト薬物動態の予測手法の確立を目指す。

## 2) 成果

- 結腸がん由来Caco-2細胞を用いて培養腸管細胞の双方向膜透過係数を実測し、各物質の物性値や構造記述子から消化管吸収過程の予測手法を確立した。(r=0.84)
- 実験動物の血漿中濃度推移等の文献データ等を基に、血中濃度や臓器 (肝臓等) 中濃度 (Cmax等) 及びクリアランスを再現し得る精緻なPBPK 予測モデルを構築した。すなわち重要薬物動態パラメータである消化管吸収速度( $k_a$ ) 及び、全身分布容積( $V_1$ )及び肝代謝消失速度( $CL_{h,int}$ )について、物質の化学構造データから予測モデルを確立した。(例 化合物 1.0 mg/kgをラットに経口投与した場合の血中濃度の予測値については、 $r = 0.91$ )

※ r : 予測手法による予測値とインビボ試験での値との相関関係を表す指標。

研究開発項目① 毒性発現メカニズムに基づく毒性評価技術の開発  
(b)細胞の化学物質応答性評価を基盤とする毒性評価技術の開発

### 1) 目標

化学物質の生体分子反応性や細胞応答性を評価してそれらを新たなプロファイルとすることで、現在のインシリコ手法（コンピュータによる予測手法）の弱点を補い、将来的に化学構造からの毒性予測を可能とする基盤を構築する。

### 2) 成果

- 肝臓・腎臓、血液毒性の機序に基づく毒性予測モデルの構築に必要な安定性や実施時間などを考慮した実効性のあるインビトロ試験系を選択・確立した。具体的には、遺伝子のシグナル伝達や、薬物代謝酵素、核内受容体の反応性評価、蛍光セルイメージングシステムを利用した細胞応答性評価等のインビトロ試験系を確立した。（31のプロトコルを作成）
- 一般化学物質の毒性を予測するための効果的な被験物質を抽出し、それらの約360物質についてインビトロ試験を実施した。実験結果は後述するデータマトリクスに格納し、研究開発項目②の予測モデル開発に活用した。
- 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、文献調査から、肝毒性発現の機序を整理した毒性発現の機序について文献調査を実施して整理し、研究開発項目②のユーザーシステムにおける機序情報表示に役立てた。

## 研究開発項目②人工知能を活用した予測モデルの開発（生体レベルでの毒性評価・予測を実現する情報技術の開発）

### 1) 目標

既存データベースとして散在する化学物質の構造情報、核内受容体・ストレス応答パスウェイ等の活性データ、物理化学特性の情報とそれに付随する動物実験に基づく毒性情報を一元化する。これにより、毒性発現に寄与する特性を選定するとともに、化学物質の特性が寄与する毒性の種類も明確にする。次に、選定した特性と既知の毒性間に存在するルールを深層学習等人工知能技術によって明らかにする。さらに、明らかにされたルールを元に新規化学物質の特性から、その化学物質の発現する毒性を高精度に類推する情報基盤技術を確立する。最終的には本研究で構築した情報基盤技術を研究開発項目①で得られる生体メカニズムと融合することで、現存する毒性判定実験に代わる、化学物質の生体への影響予測基盤プラットフォームとして構築することを目指す。

### 2) 成果

- ①(b)で実施した約360物質についての毒性発現に関わる多様なインビトロ試験で得られた多くのパラメータ（約3,000パラメータ）、約2,000のインビボ毒性試験についての約400強の毒性所見毎のNOEL/LOELを収集し、体系的に整理してデータセット（データマトリクス）を作成した。
- 「3層モデル」コンセプトにより毒性発現機序を考慮した毒性予測モデルを構築した（9エンドポイント×閾値300と閾値30の18モデル、平均BA=0.727（閾値300）、0.737（閾値30）を達成）。そのため、TOX21のデータを用いたMIE予測モデルを構築（108モデル、平均AUCとして0,847を達成）、インビトロ試験結果をもとにインビトロ試験予測モデルを構築（130モデル、平均BA=0.765を達成）した。
- 上記を搭載したAI-SHIPS統合的毒性予測システムを構築した。機序情報を提示する反復投与毒性システムは極めて先進的で意義が大きい。

NOEL：毒性試験においていかなる影響も認められない最高投与量　LOEL：毒性試験において何らかの影響が認められた最小投与量

BA：感度（陽性データを正しく陽性と判断した割合）と特異度（陰性データを正しく陰性と判断した割合）の平均値で示した精度の指標。陽性・陰性のデータ数に偏りがある場合でも精度を評価できる指標であり、1に近いほど高精度とされる。

AUC: 閾値全体での精度の高さを表す指標（1に近いほど高精度）。縦軸に真陽性率、横軸に偽陽性率（誤って陽性と判断した割合）の値をとってグラフ化した曲線下の面積で示す。

- 初年度から2年目までに肝毒性の機序に係るインビトロ試験系を選択・構築し、200物質程度実験を実施するとともに、肝毒性を対象とした毒性予測システムのプロトタイプを構築した。薬物動態モデルについては、ヒト結腸がん由来Caco-2 細胞を用いた小腸透過性や吸収特性評価を行い、ラット反復投与毒性との相関性を確認した。
- 3年目4年目は、血液毒性・腎毒性についても予測対象範囲を広げつつ、インビトロ試験を360物質まで増やして実施することで、インビトロ試験の予測精度向上を実施。また、薬物動態モデルに関してはラットの体内動態予測手法および予測精度向上と、その他のパラメータの予測手法を開発。
- 4年目よりAI-SHIPS統合的毒性予測システムの本格的な開発を開始し、合わせて化学メーカー等から成るユーザコンソーシアムを設置した。コンソーシアム会議を通じてAI-SHIPS統合的毒性予測システムに対する要望などを収集しながら、システムを開発した。

- 最終年度は、ユーザトライアルを実施して、インターフェース機能や表示方法の工夫を行うとともに、最終化した各種インビボ/インビトロ予測モデルならびに、PBPKモデルやDeepSnap（分子の3D画像データを入力情報として学習し、毒性判別を行うシステム）を実装して完成させた。

期間	事業の大枠の目標	具体的なアクション	その他
1st STEP 2017 - 2018 (19) 年度	<ul style="list-style-type: none"> <li>肝毒性予測プロトタイプシステム構築</li> <li>薬物動態のモデル化検討</li> </ul>	<ol style="list-style-type: none"> <li>基本的な予測モデル（肝毒性）の構築 ・構造、物性から肝毒性予測までの入力記述子（実験データ等含む）の選択（ADME情報や作用機作情報等）と適正情報処理システム（アルゴリズム等）の開発、構築</li> <li>毒性メカニズム解明、インビトロ試験実施 ・シグナル伝達系、タンパク、核内受容体、細胞内複雑系毒性発現情報取得）等</li> <li>薬物動態モデル ヒト結腸がん由来Caco-2 細胞等を用いた小腸透過性や吸収特性評価を行い、ラット反復投与毒性との相関性を検討。</li> </ol>	
<b>2019 中間評価</b>			
2nd STEP 2019 (2020) - 2021年度	<ul style="list-style-type: none"> <li>血液毒性、腎臓毒性等予測プロトタイプシステム構築</li> <li>肝毒性予測システムの精緻化</li> <li>肝臓、血液および腎臓毒性と薬物動態モデルからなる統合的予測システムの構築</li> </ul>	<ol style="list-style-type: none"> <li>血液毒性、腎臓毒性への応用展開 血液毒性、腎臓毒性作用機差情報の取得必要に応じ、実験データ取得。</li> <li>国内外公表、取得情報の入力および上記、複雑系毒性情報の解析と入力による毒性予測システムの精緻化</li> <li>薬物動態モデル 文献データの収集およびラットの体内動態予測手法の確立と予測精度の精緻化および関連するパラメータの予測手法開発。</li> <li>ユーザトライアルの実施等により、インターフェース機能や表示方法の工夫を行うとともに、各種インビボ/インビトロ予測モデルならびに、PBPKモデルやDeepSnapを実装して統合的予測システムを構築</li> </ol>	<ul style="list-style-type: none"> <li>コンソーシアム設置</li> <li>ユーザトライアル実施</li> </ul>
PJ終了後 2022年度～	幅広い分野への本システムの活用促進を図る上で必要となる課題等を調査	令和4年度化学物質安全対策（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）実施	

(単位：百万円)

研究開発項目	2017年度	2018年度	2019年度	2020年度	2021年度	合計
①毒性発現メカニズムに基づく毒性評価技術の開発	158	255	226	241	94	974
②人工知能を活用した予測モデルの開発（生体レベルでの毒性評価・予測を実現する情報技術の開発）	29	71	96	123	257	576
③プロジェクトの管理・成果物の活用に向けた調査等	19	74	100	109	118	420
計	206	400	422	473	469	1970

※主要な人件費、機器等の購入費用等は①に含む



- 研究開発実施期間中に発生する知的財産とデータ・情報のマネジメントについては、日本版バイ・ドール制度（知的財産権の受委託帰属を通じて研究開発活動を活性化し、その成果を事業活動において効率的に活用）を踏まえて対応した。具体的には、2015年5月経済産業省「委託研究開発における知的財産マネジメント」に関する運用ガイドラインに従い、2017年度に本事業参加者間で知財合意書を策定し、この合意書に基づいて知財運用を実施した。あわせて、本規則に従って知財関連案件の委員会を運営するための知財運営委員会規則を策定した。
- 研究開発終了時に、本事業参加者は、開発したプログラムやデータマトリクス等の著作権を奈良先端技術大学院大が所有することに合意した。この合意に基づき、現在、開発したプログラムやデータマトリクス等は奈良先端科学技術大学院大学が管理している。

技術テーマ	中間目標（2019年度）	最終目標（2021年度）	設定（変更）理由
①生理学的薬物動態モデルを活用した、化学物質の体内濃度の推定手法の開発 （研究開発項目①（a）に該当）	インビボ肝毒性情報がある学習用化学物質について、ラット及びヒト肝代謝酵素による代謝安定性試験を実施し、ラット及びヒトの薬物代謝の種差情報を取得する。ヒトの体内動態を予測可能な生理学的薬物動態（PBPK）モデルのプロトタイプを開発する。	ヒトでの仮想投与時の化学物質暴露量とヒト血中、肝臓中及び尿中濃度の関係を両方向から推定可能な生理学的薬物動態（PBPK）モデルを構築する。	ラットなどの齧歯動物とヒトにおける薬物代謝や体内動態には、しばしば種差が見られることから、ラットにおける毒性のヒトへの外挿手法を確立し、薬物動態モデルを構築するため。
②細胞試験技術を活用した、遺伝子のシグナル伝達の測定手法の開発 （研究開発項目①（b）に該当）	インビボ肝毒性情報がある学習用化学物質の生体分子反応性及び細胞応答性を評価し、動物実験データとの検証を行い、毒性と関連する指標の絞込を行う。	多色発光リアルタイム測定技術を活用し、毒性発現時の細胞内ネットワーク構造を解析するための細胞試験系を開発する。	化学物質の毒性予測に用いるための化学物質のプロファイリングが不完全であることから、化学物質の構造等から毒性予測をするために、化学物質の生体分子反応性や細胞応答性を評価し新たなプロファイリングをするため。
③遺伝子ネットワーク解析を活用した細胞内ネットワーク構造解析手法の開発、及び解析結果と動物試験データとの検証に基づく毒性発現メカニズムの解明 （研究開発項目①（b）に該当）	相互作用ネットワーク構造を解明し、動物実験データとの検証を行うことによって、初歩的なインビトロ試験系を構築する。	ハイスループットで測定される多色発光時系列データから、毒性によって異なる細胞間ネットワーク構造を推定するとともに、推定したネットワーク構造のグラフ特性を元に毒性予測を行う新規ネットワーク構造分類（ネットワーククラスタリング）手法を開発する。	
④①～③を組み合わせた毒性発現パターン解析手法の開発、及び解析結果と動物試験データとの検証に基づく予測手法の開発 （研究開発項目②に該当）	人工知能に既存の毒性学論文や化学物質の構造式・動物実験データを人工知能に学習させる。さらに、上記①の成果として新たに取得できる毒性発現メカニズム情報も学習させ、新規化学物質の毒性を予測する初歩的なシステムを開発し、化学品メーカー等で試行して問題点を抽出する。	これまで蓄積されている動物実験データ、動物における毒性発現ネットワーク構造、さらに③で開発した手法を統合し、化学物質の有害性予測ツールとして構築する。	生理学的薬物動態（PBPK）モデル及び細胞内シグナル伝達に基づくネットワーク構造等から得られる毒性発現メカニズム情報を人工知能プラットフォームに学習させ、機能性化学物質の毒性予測精度を高めるとともに、同プラットフォームを共通基盤として、予測手法の更なる高度化を図るための体制整備を進めるため。



技術テーマ	最終目標（2021年度）	成果・意義	達成状況	未達の原因分析/ 今後の見通し
①生理学的薬物動態モデルを活用した、化学物質の体内濃度の推定手法の開発（研究開発項目①（a）に該当）	ヒトでの仮想投与時の化学物質暴露量とヒト血中、肝臓中及び尿中濃度の関係を両方向から推定可能な生理学的薬物動態（PBPK）モデルを構築する。	<ul style="list-style-type: none"> <li>結腸がん由来Caco-2細胞を用いて培養腸管細胞の双方向膜透過係数を実測し、各物質の物性値や構造記述子から消化管吸収過程の予測手法を確立した。（<math>r=0.84</math>）</li> <li>重要薬物動態パラメータである消化管吸収速度（<math>k_a</math>）及び、全身分布容積（<math>V_1</math>）および肝代謝消失速度（<math>CL_{h,int}</math>）について、物質の化学構造データからの予測モデルを確立した。（化合物 1.0 mg/kg をラットに経口投与した場合の血中濃度の予測値について、<math>r = 0.91</math>）</li> <li>実験動物の血漿中濃度推移を基に、臓器中濃度および尿中排泄を再現し得る PBPK モデルを構築した。</li> </ul>	達成	
②細胞試験技術を活用した、遺伝子のシグナル伝達の測定手法の開発（研究開発項目①（b）に該当）	多色発光リアルタイム測定技術を活用し、毒性発現時の細胞内ネットワーク構造を解析するための細胞試験系を開発する。	<ul style="list-style-type: none"> <li>遺伝子のシグナル伝達や、薬物代謝酵素、核内受容体の反応性評価、蛍光セルイメージングシステムを利用した細胞応答性評価等のインビトロ試験系を確立した。（31のプロトコルを作成）</li> </ul>	達成	
③遺伝子ネットワーク解析を活用した細胞内ネットワーク構造解析手法の開発、及び解析結果と動物試験データとの検証に基づく毒性発現メカニズムの解明（研究開発項目①（b）に該当）	ハイスループットで測定される多色発光時系列データから、毒性によって異なる細胞間ネットワーク構造を推定するとともに、推定したネットワーク構造のグラフ特性を元に毒性予測を行う新規ネットワーク構造分類（ネットワーククラスタリング）手法を開発する。	<ul style="list-style-type: none"> <li>③で確立したインビトロ試験の結果と動物試験データとの比較解析を行い、毒性発現機序についての知見を得た。</li> <li>これらの結果と細胞におけるマイクロアレイによる遺伝子発現解析及び、文献調査から、肝毒性毒性発現メカニズムを整理した。</li> </ul>	達成	

技術テーマ	最終目標（2021年度）	成果・意義	達成状況	未達の原因分析/ 今後の見通し
<p>④①～③を組み合わせた毒性発現パターン解析手法の開発、及び解析結果と動物試験データとの検証に基づく予測手法の開発 （研究開発項目②に該当）</p>	<p>これまで蓄積されている動物実験データ、動物における毒性発現ネットワーク構造、さらに3で開発した手法を統合し、化学物質の有害性予測ツールとして構築する。</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>約360物質についての毒性発現に関わる多様なインビトロ試験で得られた多くのパラメータ、収集整理したインビボ毒性試験に関わる2,000を超える毒性試験データを体系的に整理して、データセット（データマトリクス）を作成した。</li> <li>「3層モデル」コンセプトにより毒性発現機序を考慮した毒性予測モデルを構築した（9エンドポイント×閾値300と閾値30の18モデル、平均BA=0.727（閾値300）、0.737（閾値30）を達成）。そのために、インビトロ試験結果をもとにインビトロ試験予測モデル（130モデル、平均BA=0.765を達成）及びTOX21のMIEデータを利用予測モデルを構築（108モデル、平均AUCとして0,847を達成）した。</li> <li>①～③を組み合わせ、反復投与毒性の予測、体内動態の予測、類似物質検索等を可能とするユーザーシステムとインビトロやインビボの詳細データやモデルの閲覧管理を可能とするモデル・データ管理システムで構成されるAI-SHIPS統合的毒性予測システムを構築した。機序情報を提示する反復投与毒性予測システムは極めて先進的で意義が大きい。</li> </ul>	<p>達成</p>	

年度	論文数	国内特許出願	国外特許出願	PCT出願
2017年度～ 2021年度	181*	0件	0件	0件

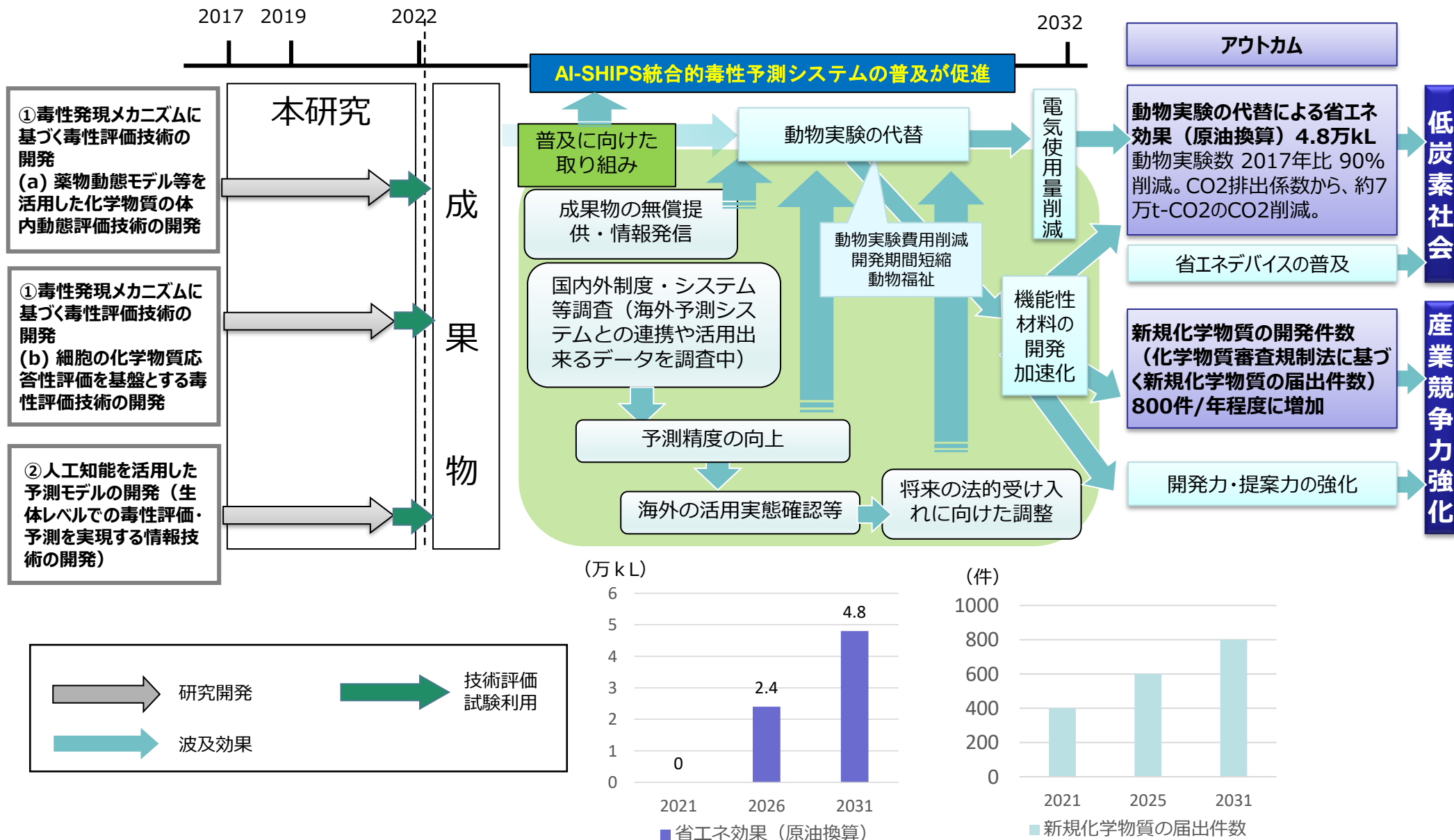
\*講演等含む、また2021年度終了時点での数を記載。

**事業目的を踏まえたアウトカムの内容**

毒性発現機序情報を提示可能な毒性予測モデルを構築することで、機能性化学物質の安全性試験を動物試験からインシリコによる手法に代替する。これにより、動物試験に用いる、動物の飼育と実験施設での電気使用量等が削減されることでCO2排出量の削減を図る。また、機能性化学物質の開発が効率化されることで、新規機能性化学物質の開発件数の増加を促す。

	アウトカム指標・目標	目標達成の見込み
2031年度	<p>動物実験の代替による省エネ効果（原油換算） 開発段階での安全性評価のための動物飼育・実験施設での電気使用量を264,000,000kWh/年と見積り。本事業終了10年後には、動物実験数が現在より90%削減されると予測。CO2排出係数から、約9万t-CO2のCO2削減を見込む。（原油換算6万kL）</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AI-SHIPS統合的毒性予測システムは、高速・効率的に化学物質の有害性を評価することが出来るものであるが、アウトカムの達成には、まずは幅広い分野の事業者等に本システムを認知してもらうことが普及に向けたハードルとなる。また、普及の加速には、本システムの予測精度の向上も重要なポイント。このため、本システムの無償提供やPRを行うとともに、予測精度向上に活用できるデータやOECD・QSARツールボックス等海外の予測システムとの連携可能性調査に取り組んでいる。これらの取り組みを通じて徐々に普及が進んでいくことにより、本事業終了10年後の動物実験数は、当初の見込みどおり、現在より90%削減されると予測。</li> <li>• なお、本システムの活用による新規機能性化学物質開発件数は、事業開始当初年間600件から事業終了10年後に1000件（年40件程度増加）になると見込んでいた。しかし、ここ数年の新規機能性化学物質の開発件数は年間400件程度である。現状を踏まえると、事業終了10年後の増加件数は800件程度と見直すことが妥当と考えられる。これを踏まえ、事業終了10年後のCO2削減量（予測）は約7万t-CO2（原油換算4.8万kL）と見直すこととする。</li> </ul>

アウトカム指標・目標		目標達成の見込み
2031年度	<p>新規化学物質の開発件数（化学物質審査規制法に基づく新規化学物質の届出件数）            コンピュータシミュレーションによる毒性予測によって、機能性化学物質の開発の効率化が図られることにより、国内の開発拠点が維持され、新規化学物質の開発力が向上し、本開発テーマ終了10年後の2031年度には、新規機能性化学物質の開発件数が2016年頃の約600件/年から1000件/年程度に増加することを見込む。</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 本事業においては、計画どおり、化学構造等の情報から肝臓・腎臓・血液の各毒性を予測するAI-SHIPS統合的毒性予測システムを構築した。本システムは、機能性化学品だけでなく、その他多くの用途の化学物質についても安全性評価に活用できるものとなっており、現在、化学・電機等の分野の事業者等に対し、本システムのPRや無償提供を行い、活用促進を図っているところ。また、普及に向けた課題、予測精度向上に活用出来るデータやOECD・QSARツールボックス等海外の予測システムとの連携可能性について調査を進めているところ。今後、調査結果を整理し様々な機会を通じて本システムの普及を促進していく。</li> <li>• なお、本事業開始時には、本システムの活用により、事業終了後10年間で新規機能性化学物質の開発件数が600件から1000件に増加（年40件程度増加）すると見込んでいたが、ここ数年の新規機能性化学物質の開発件数は年400件程度である。現状を踏まえると、事業終了10年後の開発件数は800件程度と見直すことが妥当と考えられる。</li> </ul>



(注) 事業開始当初は本事業終了10年後（2031年度）に、新規機能性化学物質の開発件数が約600件/年から1000件/年程度に増加（年40年程度増加）すると見込んでいたが、直近2年の新規機能性化学物質の開発件数は年400件程度である。AI-SHIPS統合的毒性予測システムの活用により当初の想定と同程度に今後開発件数が進むとすると、事業終了10年後の開発件数は800件程度が妥当と考えられる。また、事業終了後の開発件数変更を踏まえ、省エネ効果（原油換算）は4.8万KL、CO2削減量は約7万t-CO2が妥当な量と考えられる。

5カ年の予算執行額 (億円)	試算効果 (億円)
19.7	100以上/年

<安全性試験の代替による費用削減効果>

- 一般的に、新規化学物質1物質を開発するには10物質程度の候補物質について、動物実験を行う必要がある。28日間反復投与毒性試験が本事業の成果物に置き換わったとすると、1物質の新規化学物質の開発にかかる安全性試験の費用として、10物質 × 850万円 = 8,500万円が削減できる。
- 通常新規化学物質約300物質のうち、高分子フロースキーム等を除く28日間反復投与毒性の試験データを要する物質の年間届出件数は2021年度において約120物質なので、研究開発段階から上市まで考慮すると、国内全体で年間約100億円の費用が削減できる。
- 費用削減と開発期間短縮効果により、新規化学物質の開発が加速化し、届け出件数が増加した場合には、これ以上の費用削減効果が生じる可能性がある。
- 開発段階での安全性評価のための動物飼育・実験施設での電気使用量を264,000,000kWh/年と見積り。本事業終了10年後には、動物実験数が現在より90%削減されると予測。CO2排出係数から、約7万t-CO2のCO2削減が見込まれる。

<市場>

- 安全性評価コスト（費用・期間）の削減により、材料メーカーの提案力の強化、ユーザーとの摺り合わせ時間の短縮化、開発コストの大幅低減、新製品（省エネ型デバイス）開発の加速化により、我が国産業の競争力強化及び低炭素社会の実現に寄与する。

# 10. 前回評価の指摘事項と対応状況

## 評価検討会（中間評価）

今後の研究開発の方向等に関する提言	対応状況
<p>本事業の方向性としては、肝毒性の予測システムの向上に重点を置き、他臓器（腎、血液）への展開も考慮した実施が好ましい。</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ご提言を踏まえ、まず肝臓の毒性予測モデルの精度向上に重点を置いて肝毒性の予測システムの構築を推進した。肝毒性予測システムの構築に当たっては、他臓器（腎臓、血液）への展開を考慮し、腎臓、血液毒性の予測にも対応できるパラメータを組み込んでいる。</li> <li>• 中間評価以降、これまでに得た肝毒性の知見をもとに毒性予測システムを構築した。また、肝毒性を含めインビトロ試験並びにTOX21データのMIE活性モデルを説明変数に用いることで予測精度の向上を図った。これらの取組を進めることで肝臓、腎臓及び血液についても高精度で毒性を予測するシステムを構築した。</li> </ul>
<p>研究開発の内容については非常に評価が高いものである一方で、事業終了後の運用について事業実施中に検討する必要があり、特に、データ取得の継続的な実施のほか運営する組織を模索することが望ましい。</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• AI-SHIPS統合的毒性予測システムは主に化学物質の開発等を行う化学系企業での活用を想定しており、本事業終了後もこれらの企業で継続的に利用されることを期待している。本事業終了後に本システム運営組織の候補先として、2020年に化学系企業等の研究開発部門のメンバーにより構成されたコンソーシアムを設置し、事業終了後の継続的なデータ取得や本システムの管理・運営方法等について検討を進めたところ、企業等からのデータ取得に係る守秘義務やデータ提供者への優遇措置の取扱いについて課題があることが分かった。</li> <li>• このため、事業参加者の合意に基づき、現在、本システムやデータマトリクス等は奈良先端科学技術大学院大学にて管理を行っている。2022年度に調査事業を立ち上げ、化学系企業等への活用促進を図るとともに、データを継続的に取得していく方策を検討しており、奈良先端科学技術大学院大学にて、欧米のデータを中心に本システムに利用可能なデータの調査や、OECD・QSARツールボックス等の他の毒性予測システムとの連携可能性について検討を進めている。</li> </ul>
<p>アウトカム実現のためには、本事業終了10年後に本予測手法が法的に受け入れられ、定常化されるよう関係機関と調整すること。また、将来、電子デバイス分野だけでなく、幅広い分野での活用を可能とできるようなシステム構築の推進を求める。</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ご提言を踏まえ、2020年に厚生労働省に本予測手法について紹介し、本手法を法的に受け入れる場合の課題を聴取した。また、OECD・QSARツールボックス会合において本システムを紹介し、インシリコによるリスク評価を推進する欧米等の専門家の意見を聴取した。本手法の法的受け入れには、本手法による毒性予測結果を有害性判断に用いる場合の基準や利用できる範囲等について引き続き検討が必要である。このため、まずは毒性予測手法を活用している諸外国の実態を確認し、本手法によるデータの受け入れ範囲や補足すべき情報の内容等を明確にしていくことで、将来の法的受け入れ・定常化に向けた課題を解決しながら、我が国で受け入れ可能な方策を調整して参りたい。併せて、OECD・QSARツールボックスとの連携の可能性についても検討を進めて参りたい。</li> <li>• また、AI-SHIPS統合的毒性予測システムは、電子デバイス分野の化学物質だけでなく、様々な化学物質にも適用できることを目指して構築を進めており、化学・電機等幅広い分野で活用可能である。</li> </ul>



今後の研究開発の方向等に関する提言	対応状況
<p>本事業で開発された予測モデルの検証については、当予測システムで予測した結果と動物試験による評価結果を多数比較することで、予測システムの精度向上と信頼性獲得につながると考えられる。</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 予測モデルの検証に当たり、中間評価までに動物試験による毒性データと毒性予測システムによる予測値の比較をHESSの約900データで行った。ご提言を踏まえ、中間評価後は比較に用いるデータの数を増やすこととし、HESSに加えREACHのデータを併せて2,000データで比較した。最終的にインビトロ試験で取得した約350物質の毒性データのほか、化審法の新規化学物質の審査で用いられた反復投与毒性毒性試験データ（審査終了により公開されたもの）等、合計1250物質のデータを用いた。</li> </ul>
<p>企業参加を呼び掛ける必要がある。そのためには、ターゲット業界の絞り込み、業界団体・個別企業へのPR、参加企業に対するインセンティブ検討などが必要不可欠である。具体的には、本予測システムが従来よりも有用性が上がっていることの実証、企業の協力へ向けた戦略及び国からの支援策の提示等を検討することが望まれる。</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• ご提言を踏まえ、化学系企業等の研究開発部門のメンバーにより構成されたコンソーシアムを設置した。具体的には、コンソーシアムメンバーが AI-SHIPS統合的毒性予測システムを利用し、必要と考える機能等の意見を反映させた。例えば、本システムの機能の1つである、化学物質の体内動態予測結果のアニメーション表示機能は、コンソーシアムメンバーが本システムのユーザートライアルの際に挙げた要望を取り入れたものである。</li> <li>• また、企業からの毒性データ提供について検討したところ、提供いただいた毒性データの守秘義務やデータ提供者への優遇措置の取扱いについて課題があることが分かった。このため、上述したように、2022年度に調査事業を立ち上げ、化学や電機等幅広い分野の企業への本システムの活用促進に取り組むとともに、データを継続的に取得していく方策を検討しており、奈良先端科学技術大学院大学にて、欧米のデータを中心に本システムに利用可能なデータの調査や、OECD・QSARツールボックス等の他の毒性予測システムとの連携可能性について検討を進めている。</li> </ul>

## 評価WG（中間評価）

所見	対応状況
<p>アウトプットの達成がアウトカムにつながり、本事業が社会に受け入れてもらえるよう、社会への実装時にあたっての目標や課題等について、丁寧な説明を行うとともに、事業計画の検討をしていただきたい。</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 2020年度に化学系企業等の研究開発部門のメンバーにより構成されたコンソーシアムを設置し、事業を推進した。具体的には、コンソーシアムメンバーがAI-SHIPS統合的毒性予測システムを利用し、必要と考える機能等の意見を反映させた。例えば、本システムの機能の1つである、化学物質の体内動態予測結果のアニメーション機能は、コンソーシアムメンバーが本システムのユーザートライアルの際に挙げた要望を取り入れたものである。</li> <li>• このコンソーシアムにおいて、継続的なデータ取得や本システムの管理・運営方法等について検討を進めたところ、企業からのデータ取得に係る守秘義務等の課題について引き続き検討が必要とされたことから、2022年度に検討を継続するため調査事業を立ち上げ、奈良先端科学技術大学にて本毒性予測システムの管理や事業者への普及等について検討している。</li> </ul>
<p>本事業が国内だけでなく海外との関係でどういう位置づけにあるかについて、わかりやすく示していただきたい。</p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 本事業で対象としているヒト健康影響に係る安全性評価は、従来、哺乳動物を用いた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を要すること、動物福祉の観点から、欧米諸国においては、動物実験に依存しない毒性予測システムの開発が喫緊の課題となっている。</li> <li>• AI-SHIPS統合的毒性予測システムに搭載されている毒性予測モデルは、人工知能技術を用いて、対象とする化学物質の構造から細胞内での挙動を予測するモデルと、その予測結果から生体内でどのような毒性影響が発現するかを予測するモデルを組み合わせたものとなっている。このように生体内での毒性発現機序を明確にした上で論理的に毒性を予測することから、毒性発現機序が十分に考慮されていない従来の予測モデルとは全く異なり、より信頼性の高い画期的な毒性予測モデルとなっている。本システムの活用により、新たに開発される化学物質を効率的かつ精度よくスクリーニングできるようになることから、本技術の優位性が期待できることである。</li> <li>• また、本システムは英語表示も可能となっていることから、海外においても幅広く活用されることが期待される。OECD・QSARツールボックス会合において本システムを紹介しており、「AI-SHIPS統合的毒性予測システムの開発が順調に進んでいることは喜ばしい。化学物質の体内動態予測結果の動画は初めて見たので驚いた。」といったコメントがあるなど反応は良好であった。</li> <li>• 本システムやその成果については、これまでもOECD等での会議や国際ワークショップ、各種学会等の場で発表したり、当該会議等の参加者等との議論を通じて情報共有を図っているところ、今後も同様の取組により情報発信を行っていく予定である。</li> </ul>

I . 事業の概要

II . 評価検討会の評価

	氏名	所属、役職
座長	伊藤 聡	公益財団法人 計算科学振興財団 チーフコーディネータ
委員	一井 朗	一般社団法人 化学情報協会 理事長
	楠原 洋之	東京大学大学院薬学系研究科 教授
	原田 房枝	日本化粧品工業連合会 サステナビリティ部長
	平林 容子	国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 研究センター長

- 第1回 評価検討会（2022年11月2日） （公開）
  1. 開会
  2. 評価検討会の公開について
  3. 評価の方法について
  4. 技術評価報告書の構成について
  5. 事業概要の説明及び質疑応答
  6. 閉会
  
- 評価委員からの評価コメントの提出（2022年11月2日～11月16日）
  
- 第2回 評価検討会（議決日：2022年12月12日） （書面審議）
  1. 第1回終了時評価検討会議事録（案）の審議
  2. 技術評価報告書（案）の審議

化学物質の安全性評価については製造業に直面している課題の解決に資するものであり、化学物質の安全性予測手法の開発は、業界共通の基盤として国・化学系企業等・大学・研究機関が共同して取り組むべき課題である。

本プロジェクトの方向性は、動物試験に代わる評価手法の確立への国際的な流れに合致しており、その成果物は化学系企業等が保有するデータを呼び込む基盤として期待されるとともに、産業競争力の強化や環境負荷に貢献するものである。また、拡張性に優れ、体内動態アプローチ等の採用等により、新しい予測モデルが構築されている点も高く評価できる。

一方で、成果の社会実装、アウトカムの着実な実施が強く望まれるものであるが、社会実装に向けては道半ばであり、産業界やアカデミアのみならず国による支援等を含めた継続的な取組が必要である。また、より一層の国際連携や標準化活動に取り組むべきである。

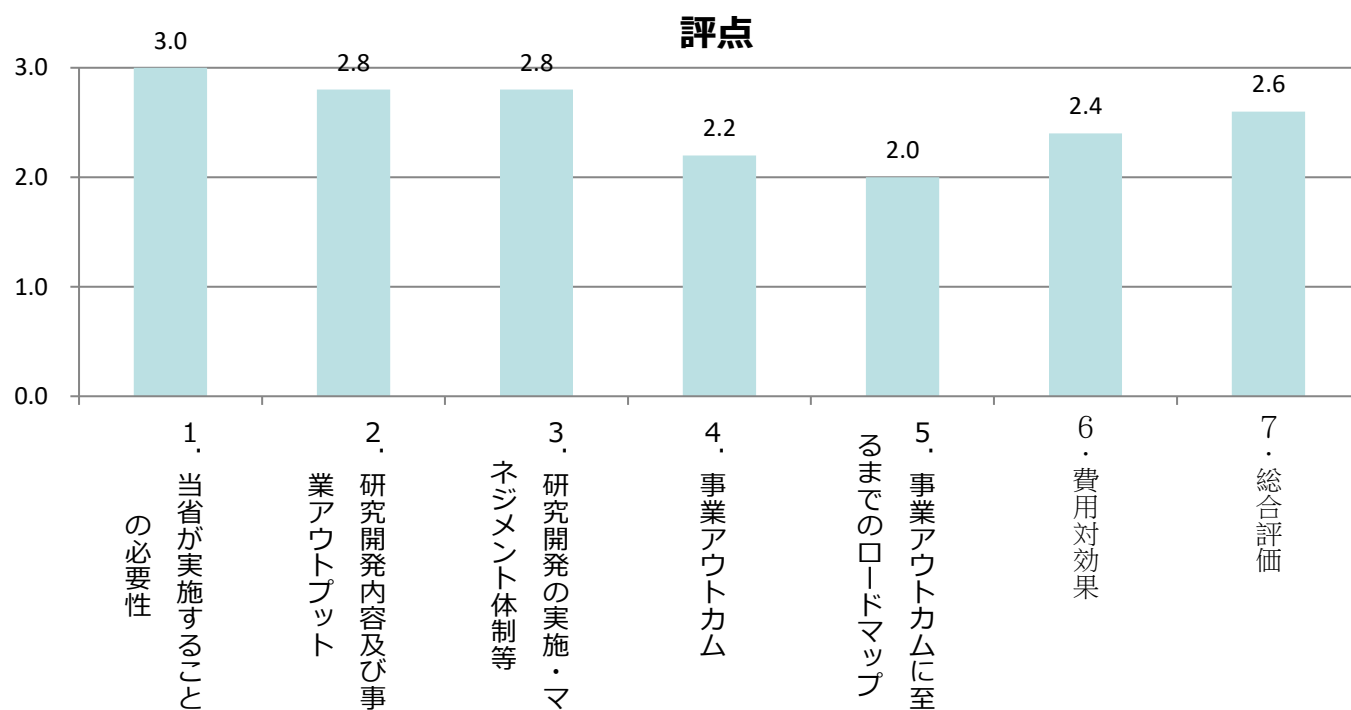
今後の研究開発の方向等に関する提言	対処方針
<p>【アウトカム達成に向けて】 本予測システムは利用者にとって理解・納得しやすいものであるため、「まず利用してもらう」ための情報発信／認知度向上に継続的に注力するなど、利用開始までのバリアをいかに低減できるかが課題である。また、既存化学物質や他分野の化学物質への応用を普及の視野にいれることが費用対効果の面からも望ましい。</p>	<p>引き続き、学会や各種会議での情報発信、各種団体等への広報活動を通じて認知度向上を図っていく予定。 また、本システムは電子デバイス材料として新たに開発される化学物質だけでなく、既に利用されている化学物質や幅広い分野で利用される化学物質の有害性評価にも活用できることから、化学物質を取り扱う様々な分野の事業者への利用拡大を検討する。</p>
<p>【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。</p>	<p>AI-SHIPS統合的毒性予測システムを継続的に管理・運用するためのマネジメント体制の整備に向け、まず課題を整理した上で、新たな費用負担のあり方等、システムの管理者・利用者が担うべき役割について検討し、継続的かつ自立的運営が可能となる体制のあり方について検討して参りたい。併せて、その体制に向けて成果物やデータ管理のためのマネジメントプランも検討する。</p>

今後の研究開発の方向等に関する提言	対処方針
<p><b>【国際展開等】</b> 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。</p>	<p>まずは本システムについて国際的な理解を促進するため、引き続きOECDの会議や国際ワークショップ等の場で情報発信・関係者との意見交換を通じて周知を図っていく予定である。今後の国内外の動向や我が国の化学物質管理戦略等を踏まえて判断していく必要があるが、OECD・QSARツールボックス等の他の毒性予測システムとの連携可能性について検討しており、それを踏まえつつインシリコにおける毒性予測について国際連携を深めていくこととしたい。</p>
<p><b>【行政利用への取組】</b> 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。</p>	<p>法的受入れには多くの課題が残されている。まず本システムによる毒性予測結果を有害性判断に用いる場合の基準や利用できる範囲等について検討していく必要があると考えている。人的・資金的リソースにも留意しながら、調査の方法や実施体制等を含め可能な限り具体的な対応策について検討を進めて参りたい。</p>



## 5. 評点法による評点結果

- 各評価委員の評点の平均を算出する評点法を実施。
- 「5. 事業アウトカムに至るまでのロードマップ」については、近年の状況変化を踏まえて事業アウトカムの目標値が見直された点や目標達成に向けて着実な取組が期待される点が評価されたものの、アウトカムの達成までの工程が定性的で、見通しが難しい面があるため、他の項目より低く評価されたと考えられる。



### 【評価項目の判定基準】

#### ○ 1.～6.各評価項目

- 3点：極めて妥当
- 2点：妥当
- 1点：概ね妥当
- 0点：妥当でない

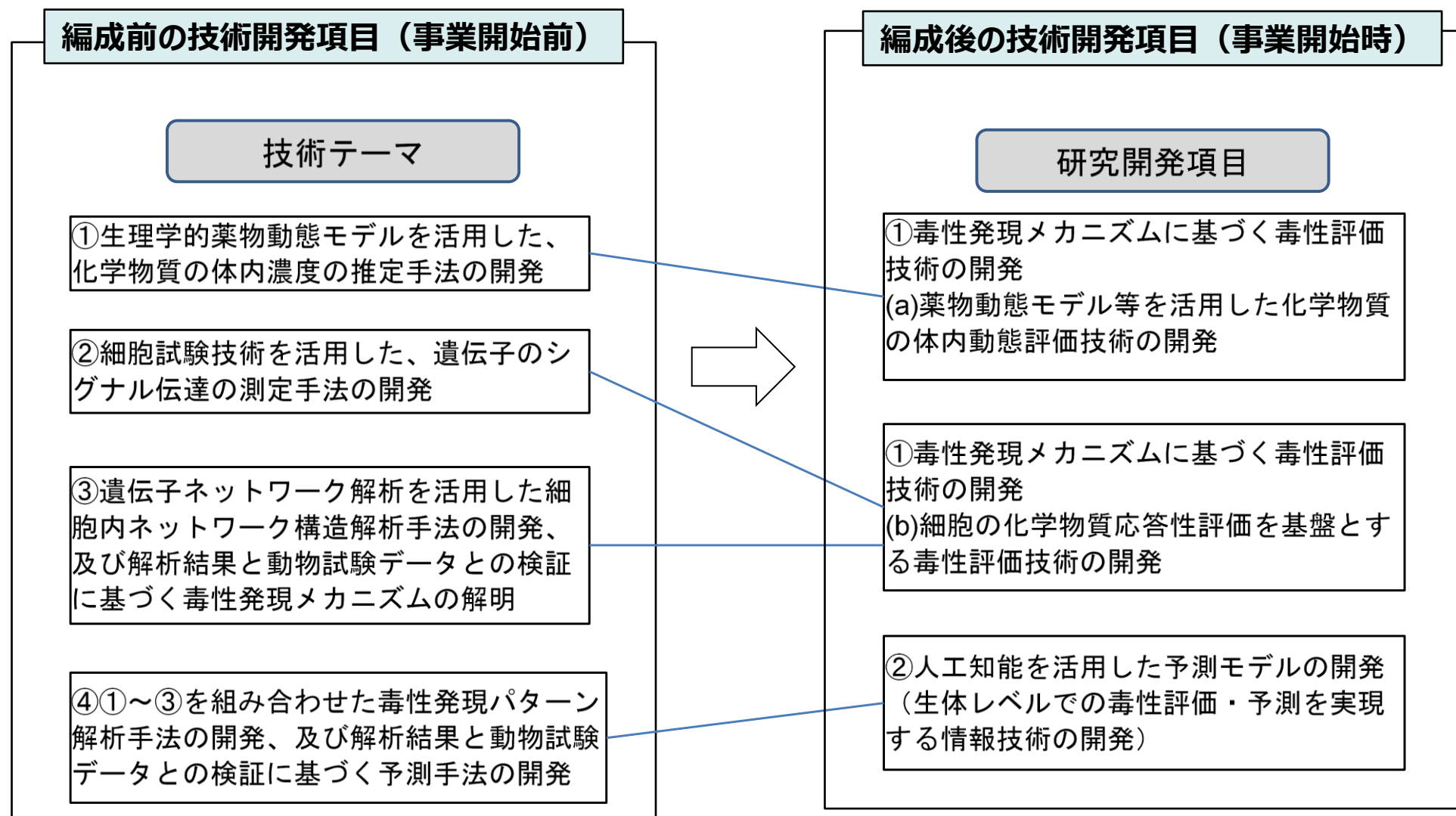
#### ○ 7. 総合評価

- 3点：実施された事業は、優れていた。
- 2点：実施された事業は、良かった。
- 1点：実施された事業は、不十分なところがあった。
- 0点：実施された事業は、極めて不十分なところがあった。

# 參考資料

## 4-1. 研究開発の全体構成

- 本事業では、取り組むべき技術開発項目として、事業開始前に4項目（技術テーマ①～④）を設定。
- その後、事業開始に当たり、より一層の効率的・効果的な事業実施計画等を検討した結果、当初の4項目（技術テーマ①～④）を3項目（研究開発項目①（a）、①（b）、②）に編成し直した。
- 本事業では、再編成後の3項目で事業を開始。なお、研究開発の内容に変更はない。

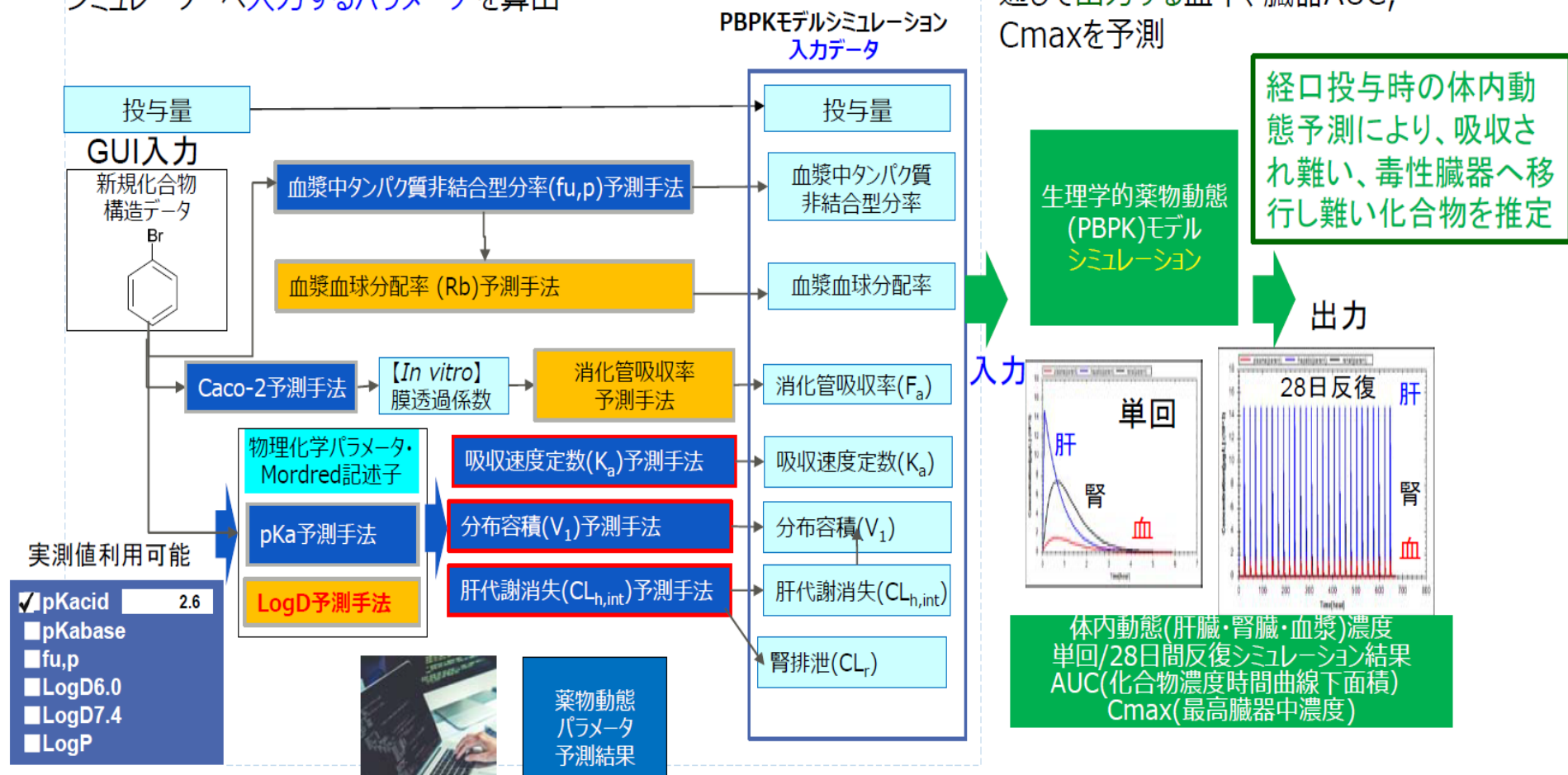


### 全体像

- 化合物の構造データから、一気通貫で血中及び腎・肝の臓器AUCとCmaxを推定するシステムを構築した。同システムは研究開発項目②で構築したAI-SHIPS統合的毒性予測システムに組み込んだ。
- そのために、Caco-2細胞を用いて膜透過係数を実測し、機械学習により、物質の物性値や構造記述子から膜透過係数を予測するモデルを構築。
- また、化合物の動物の体内動態に関する文献情報及び実測値を収集し、機械学習により、消化管吸収速度( $k_a$ )及び全身分布容積( $V_1$ )及び肝代謝消失速度( $CL_{h,int}$ )を予測するモデルを構築。

I 化学物質の体内動態時間推移を描画するPBPKシミュレーターへ入力するパラメータを算出

II .PBPKモデルシミュレーションを通して出力する血中、臓器AUC, Cmaxを予測



## 被験物質の選択

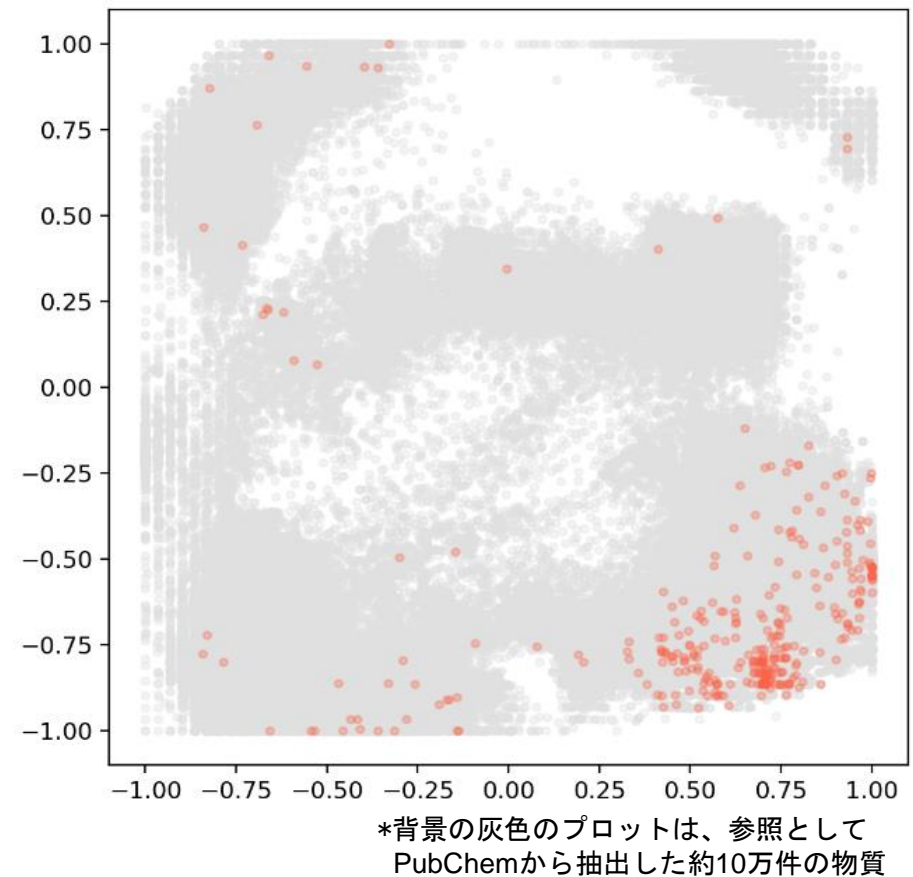
人工知能（機械学習）により予測モデルを構築するためには、「正解」のデータが必要



インビトロ試験においては、毒性試験データが入手可能な物質を被験物質とすることが必要



- HESSに記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。
- 外部検証用の物質については、インビボ毒性予測精度向上を目的として、REACH等から収集した、ラット28日間反復投与毒性試験データから、物質の多様性（ケミカルスペース上の広がり）、試薬の入手可能性、実験の実施可能性などを踏まえて選択して、28物質を被検物質とした。

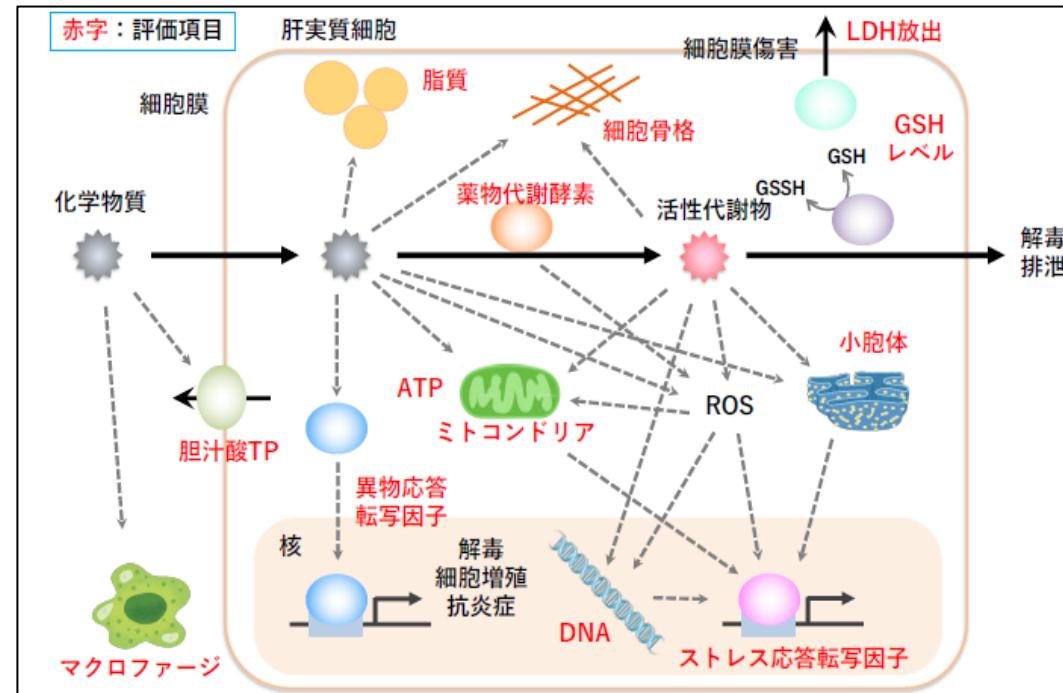
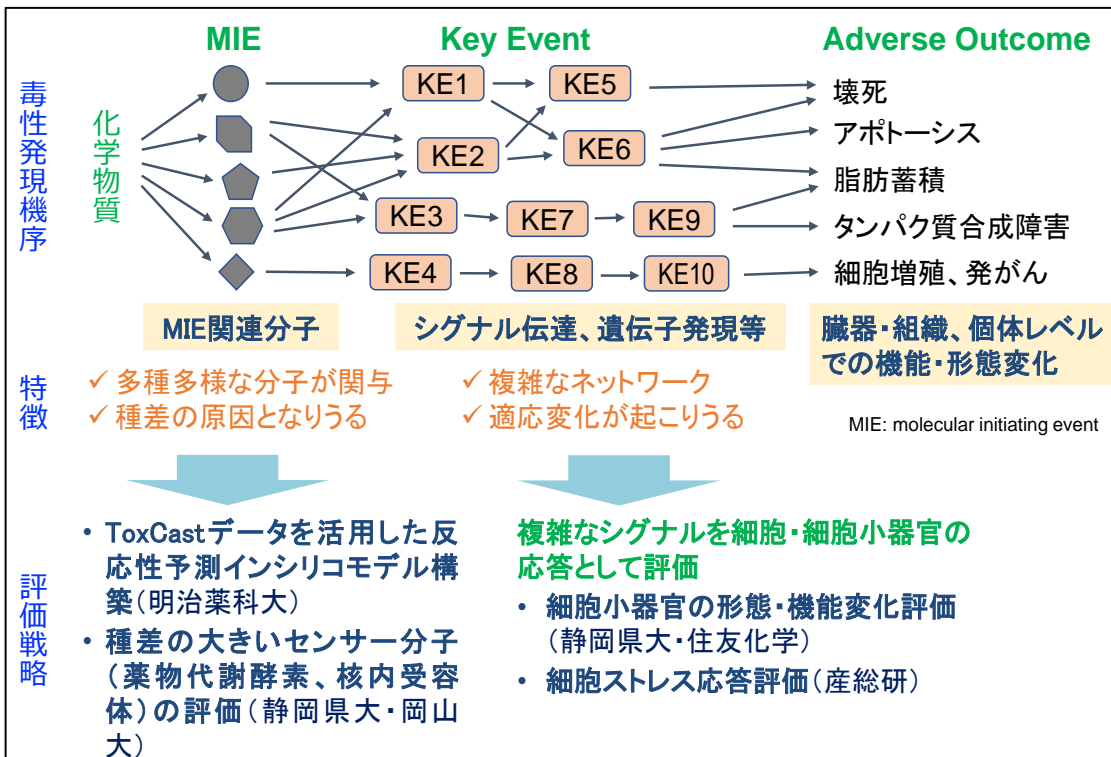


インビトロ試験の被験物質として選択した326物質（赤）のケミカルスペースにおける広がり

### インビトロ試験の選択

- 反復投与毒性試験でしばしば認められる所見の多くについては毒性発現機序が不明であること、また被験物質の種類が多く、多種多様な毒性が対象となることなどの理由より、特定の機序を推定して試験を選択することは現実的ではない。

- 本事業では、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。



インビボ毒性予測モデルの構築に向けた細胞内イベントの評価

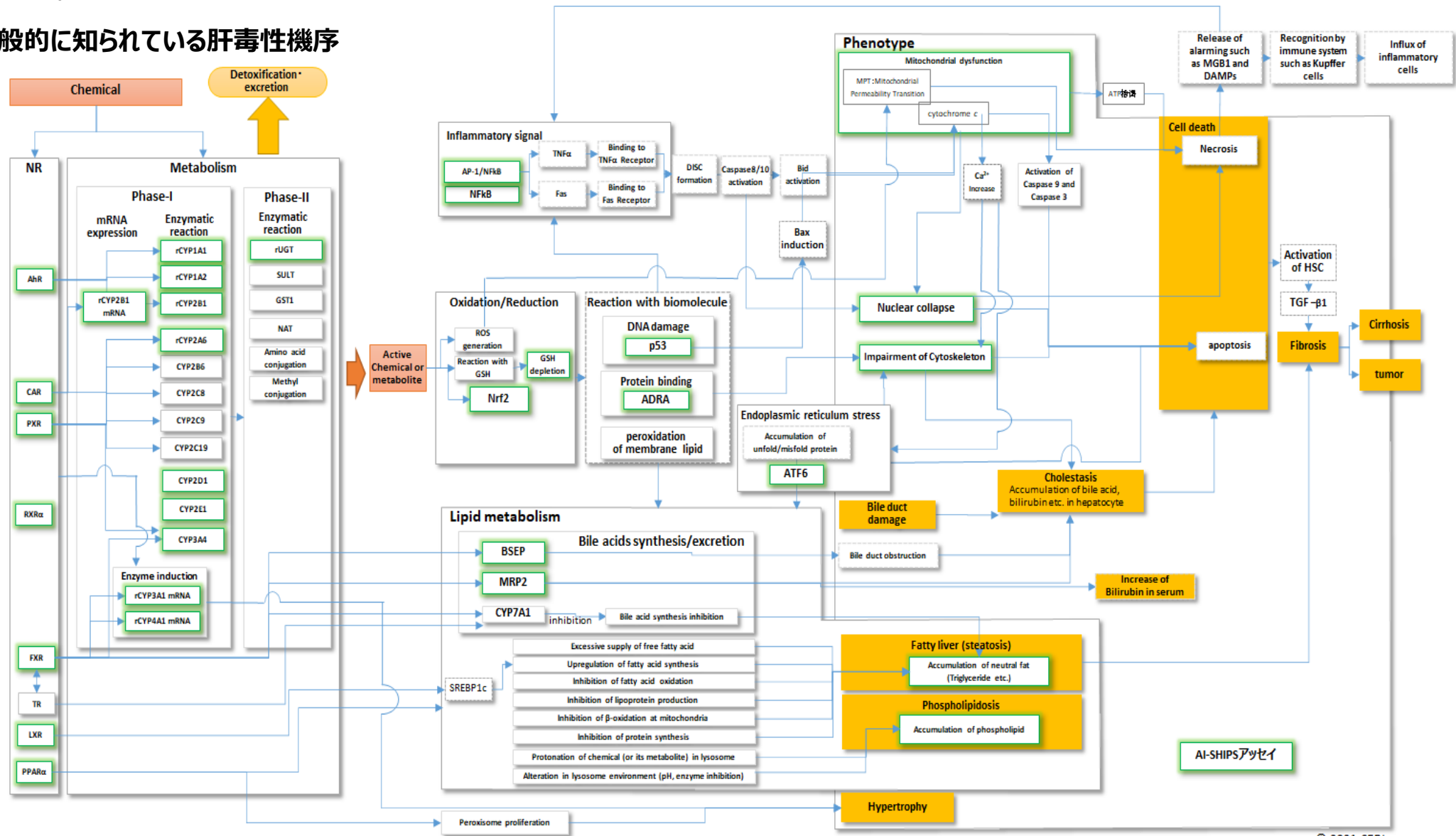
AI-SHIPS統合的毒性予測システムにおけるインビトロ試験の位置づけ

評価項目	内容	分子・項目	方法の概要	
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 (PPAR $\alpha$ , PXR, RXR $\alpha$ , LXR $\alpha$ , 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)
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)
11	遺伝子発現 (機序解析目的)	細胞におけるマイクロアレイによる遺伝子発現	遺伝子発現量	ヒト由来肝細胞及び初代培養ラット肝細胞を用いたマイクロアレイ

### 毒性発現メカニズムの整理

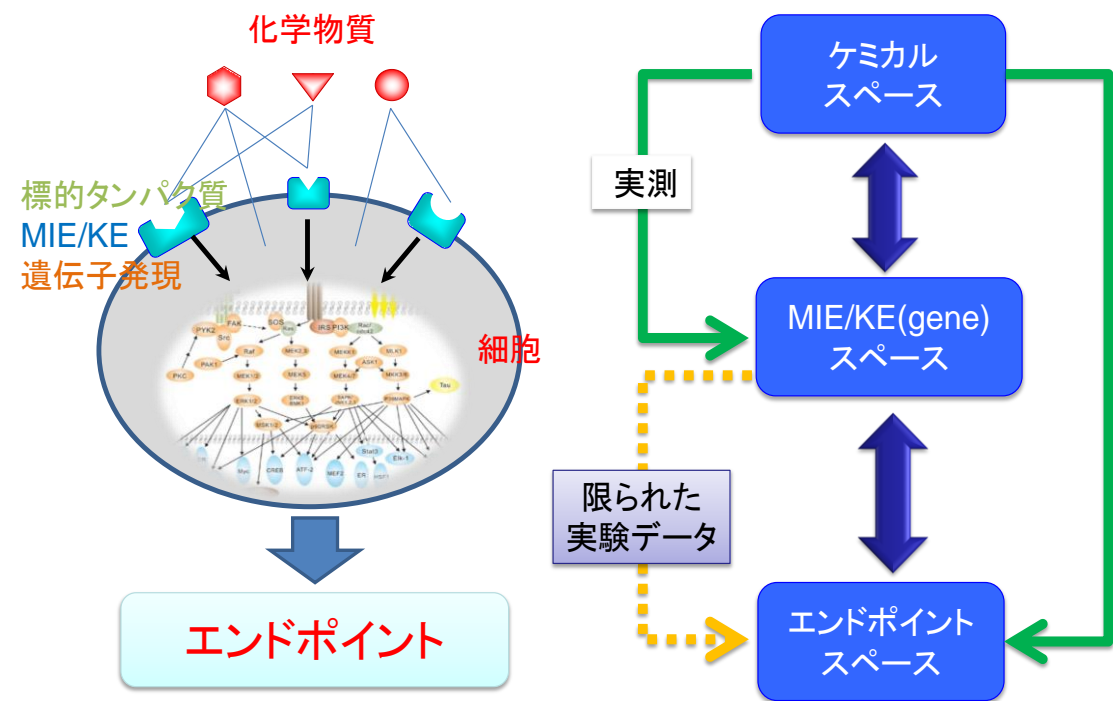
■ 細胞におけるマイクロアレイによる遺伝子発現解析および文献調査に基づき、肝毒性メカニズム情報の整理を実施し、肝毒性に関する一般的なメカニズムを整理した。この結果は、後述するAI-SHIPS統合的毒性予測システムの機序情報の表示に役立てた。

#### 一般的に知られている肝毒性機序

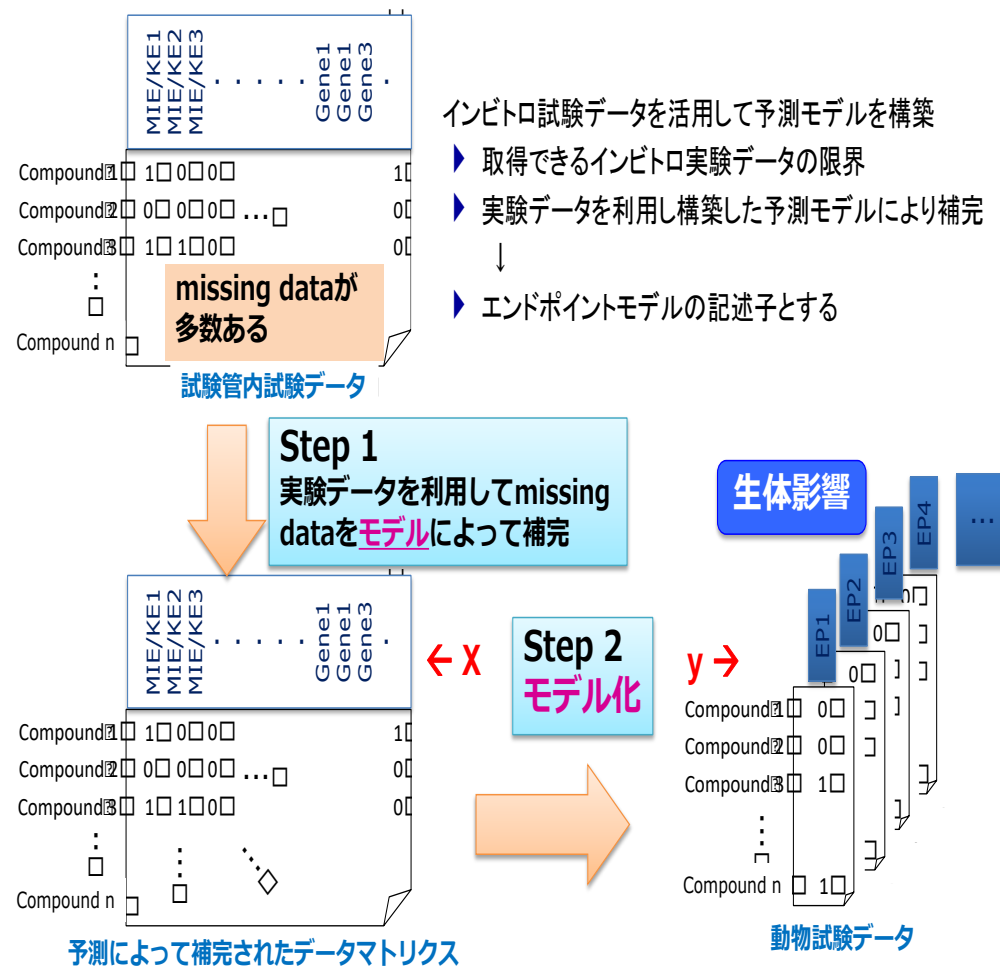




インビト毒性予測モデルの開発戦略

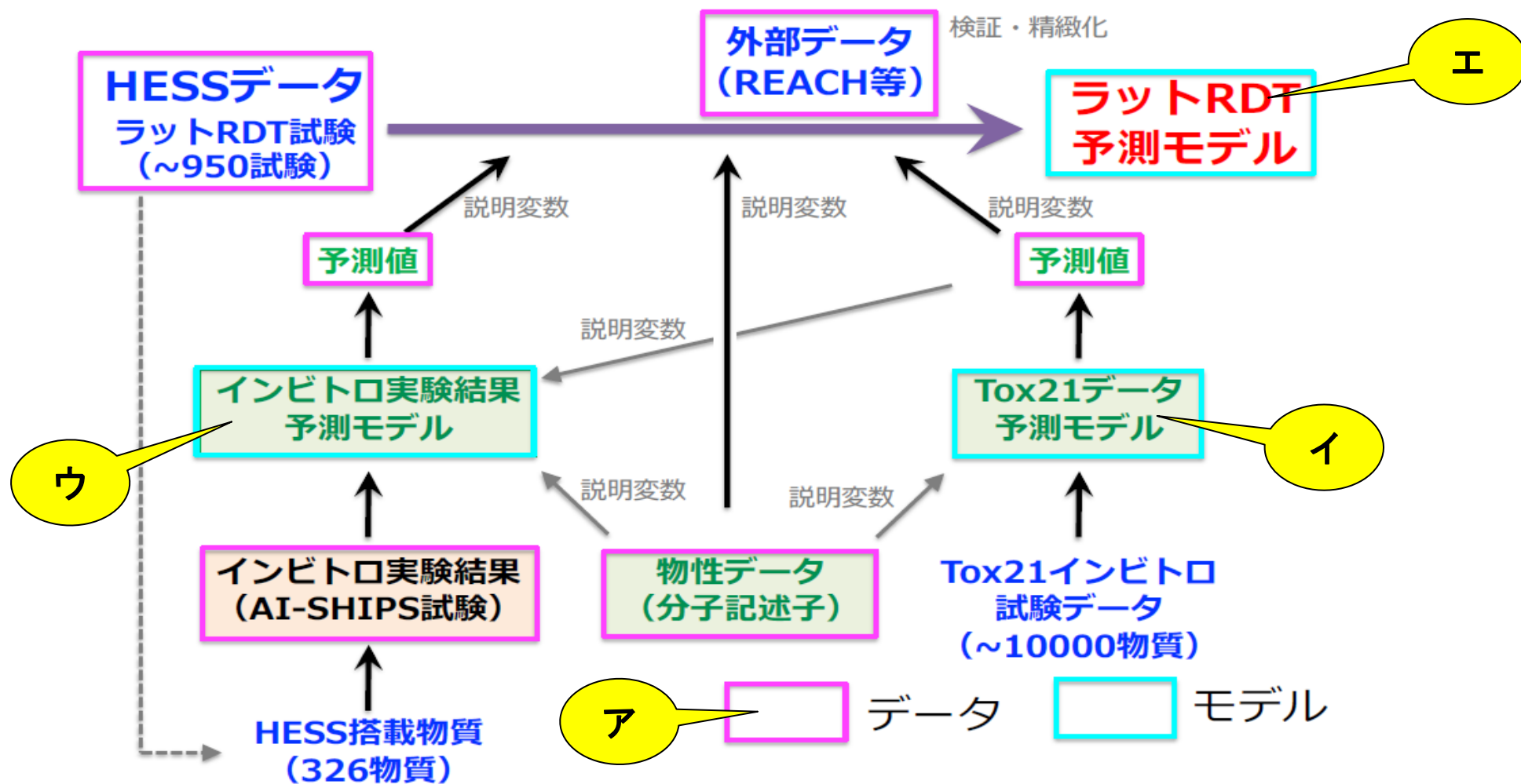


毒性予測モデルの構築イメージ（船津3層モデル）



予測モデルによる実験値の補完イメージ

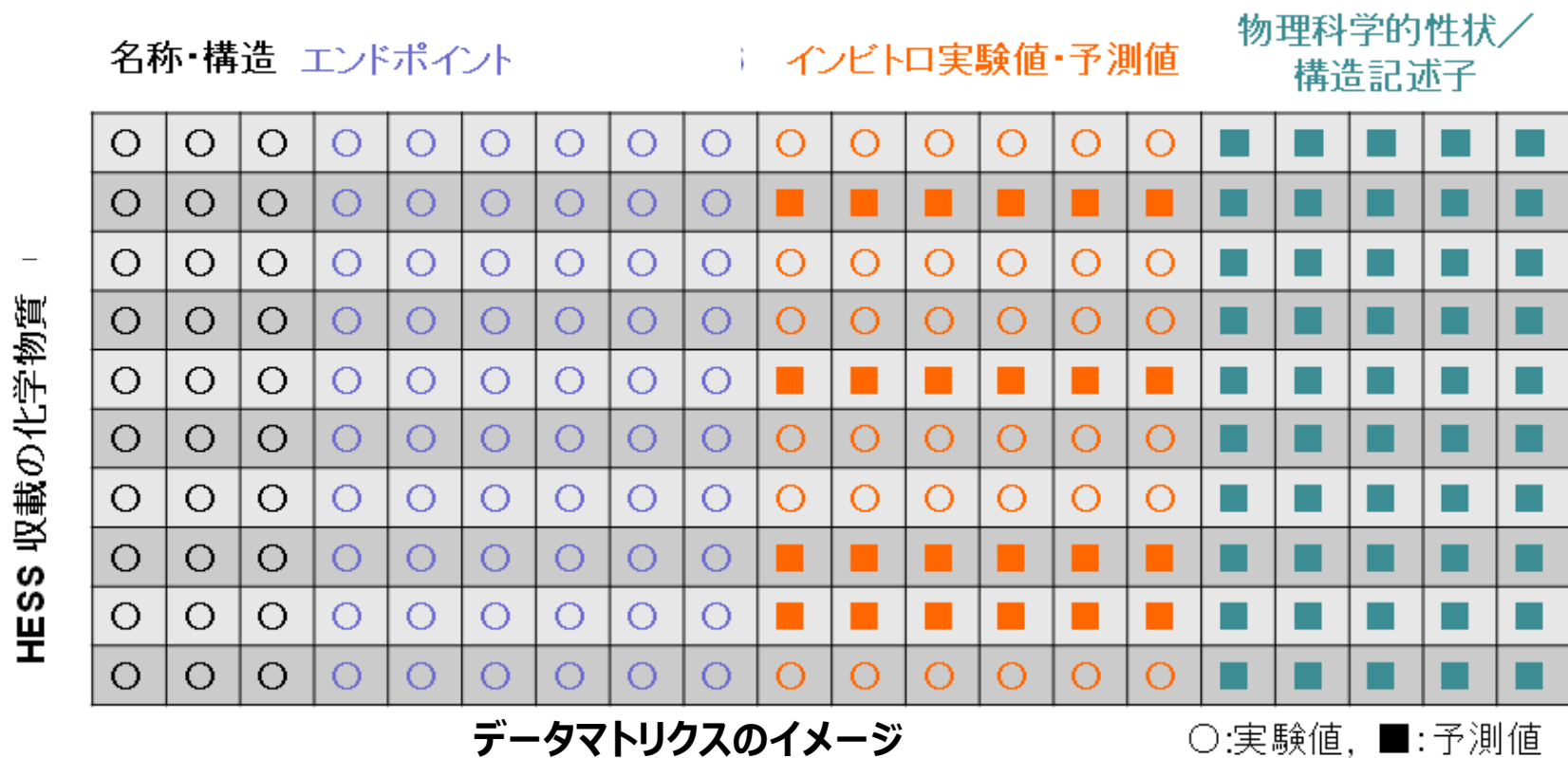
毒性予測モデルとデータの関係



- ア：データマトリクスの作成と管理
  - イ：インビトロ実験値予測モデルの構築 (その1：Tox21-MIE活性スコア)
  - ウ：インビトロ実験値予測モデルの構築 (その2：本事業で実施したインビトロ試験)
  - エ：肝毒性、腎、血液をエンドポイントとしたインビボ毒性予測モデルの構築
- 詳細はスライド29～40に記載

### ア：データマトリクスの作成と管理

- 毒性発現に関わる多様なインビトロ試験を約360物質について実施して得た多くのパラメータ、インビボ毒性試験に関して、HESSやREACH等から収集した2,000を超える毒性試験データを、体系的に整理して一つのデータセット（データマトリクス）として整理した。
- 本事業で実施したインビトロ試験の結果については、モデル構築対象としたパラメータだけでなく、各濃度での値など、今後の活用性を踏まえ、分解度の高いデータを収載した（約3,000パラメータ）。インビボ毒性試験情報についてもグループエンドポイントのデータだけでなく、HESSと同じ約400強の毒性所見のデータを収載した。
- データマトリクスは、プロジェクト期間においては、反復投与毒性試験データの更新、追加や、インビトロ試験データの追加や変更に伴って、逐次バージョンアップを行うとともに、更新履歴を整理して、プロジェクトメンバーに随時提供し、インビトロ試験とモデル構築の連携を促進し、本事業の効果的な推進に貢献した。

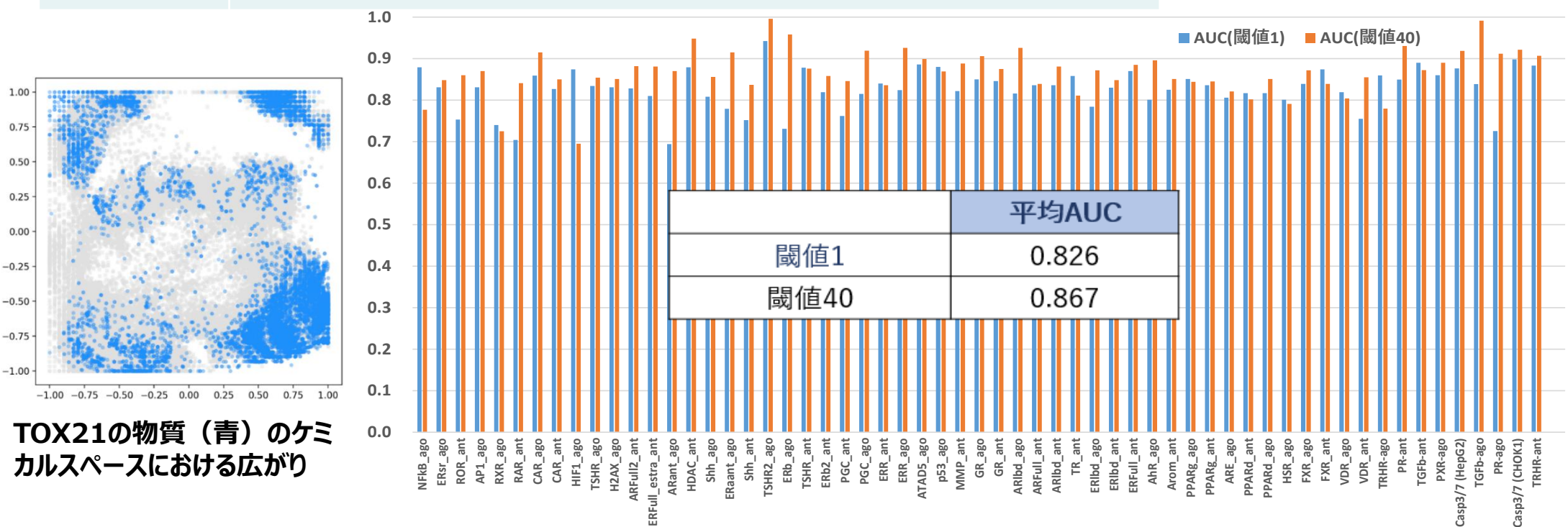


### イ：インビトロ実験値予測モデルの構築（その1：Tox21-MIE活性スコア）

■ 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
モデル	2値分類モデル 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の2通り
説明変数	Mordred 2D、3D記述子（1825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	TOX21の約1万データ
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

平均AUCとして  
0,826(閾値1)、  
0.867(閾値40)  
を達成



TOX21の物質（青）のケミカルスペースにおける広がり

ウ：インビトロ実験値予測モデルの構築（その2：当事業で実施したインビトロ試験）

【インビボ毒性予測のためのインビトロパラメータの最適化】

- 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、[130のインビトロ予測モデル構築対象パラメータを抽出](#)

合計  
130

インビボ毒性予測のためのインビトロパラメータの最適化の例

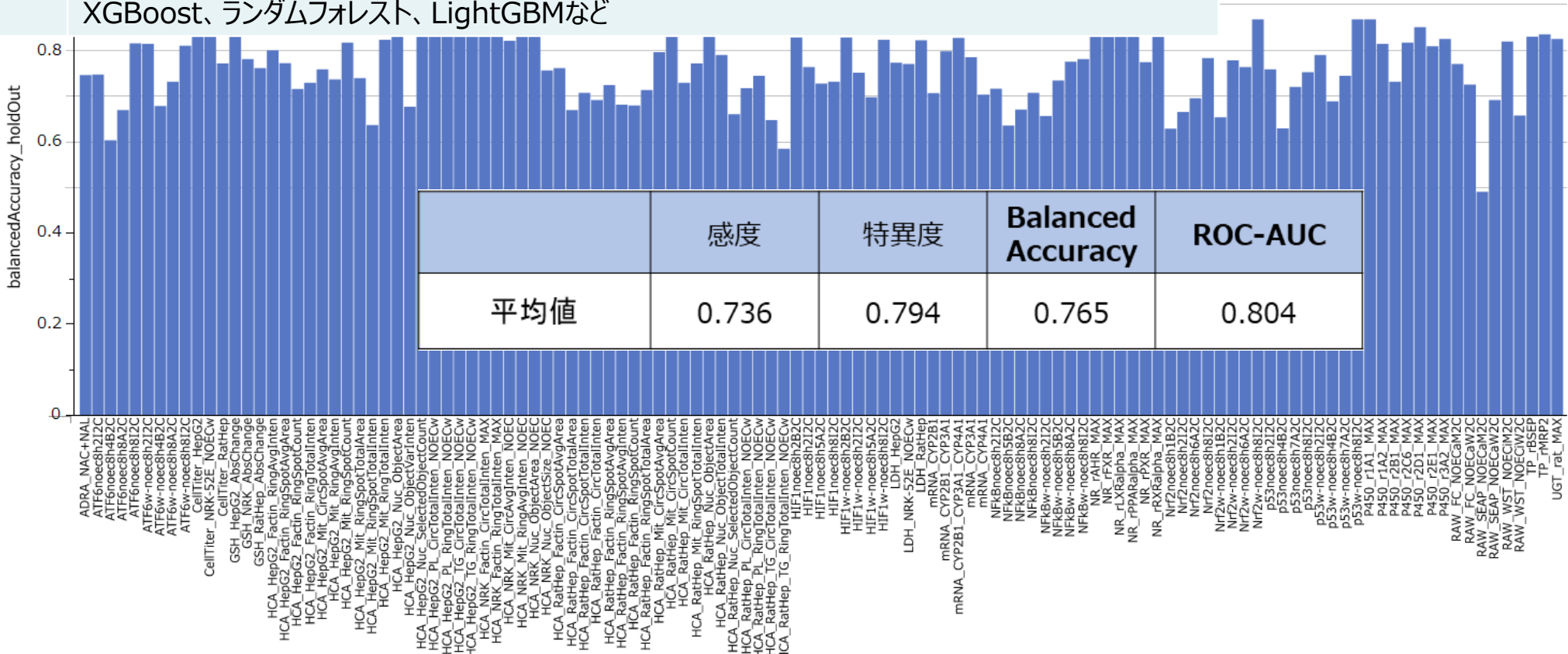
評価項目と各インビトロ試験で取得した値		パラメータ化 (測定結果の本質を損なわずにパラメータ数を減らす)	予測対象パラメータの数
<b>1. 薬物代謝酵素等反応性評価</b>			
ラット	P450反応性評価（7分子種、3濃度）	各分子種について、各濃度(3濃度)における阻害作用%の最大値を採用	7
<b>7. 細胞小器官評価（HCA）</b>			
ラット肝細胞	核（Nuc）、ミトコンドリア（Mit）、細胞骨格（Factin）（6濃度）	核、ミトコンドリア、細胞骨格のサイズ、面積、蛍光強度など38の測定項目について、6濃度での結果からNOEC値（影響の出なかった最大の濃度）を算出し、陽性（NOEC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	15
<b>9. ストレス応答シグナル伝達経路に対する影響評価</b>			
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。	8
HepG2細胞	炎症応答(NF-κB)（6濃度）		8
HepG2細胞	小胞体ストレス(ATF6)（6濃度）		8
HepG2細胞	DNA損傷(p53)（6濃度）		8
HepG2細胞	低酸素ストレス応答(HIF1)（6濃度）		8

### ウ：インビトロ実験値予測モデルの構築（その2：本事業で実施したインビトロ試験）

#### 【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（130パラメータ）
モデル	2値分類モデル
説明変数	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mordred 2D、3D記述子（1825個） もしくは、</li> <li>• Mordred 2D、3D記述子（1825個） と Tox21のMIE予測値（イで開発した予測モデルによる予測値）</li> </ul> <p>※ Mordred記述子は、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</p>
学習データ	インビトロ実験値が取得できた326物質（最終的に外部評価のための28物質も含めて学習）
手法	XGBoost、ランダムフォレスト、LightGBMなど

平均BA  
0.765  
を達成



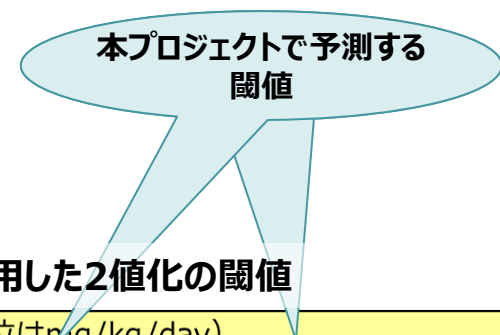
工：肝毒性、腎、血液をエンドポイントとしたインビボ毒性予測モデルの構築

【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）を予測するモデルを構築した。
- HESSに記載されている全441所見（雄性ラット）の分析を行い、肝、腎臓、血液毒性に関し下表に示す9所見にグルーピングを行い、各グループのエンドポイントを予測対象とした。
- 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。
  - ・ **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)

予測対象エンドポイント **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)

分類	名称	グループ名	特徴・代表的所見
肝毒性	EP_LV01	細胞障害・炎症	細胞死関連所見
	EP_LV0	肝機能低下	タンパク質合成低下など
	EP_LV03	肝機能亢進	タンパク質合成亢進など
	EP_LV04	胆管障害	胆管、胆道系障害
	EP_LV05	肥大	肝臓、肝細胞肥大
	EP_LV06	脂質代謝異常	肝内、血中脂質レベル増加
血液毒性	EP_BL01	血液凝固異常	血液凝固異常・出血傾向
	EP_BL02	貧血	貧血
腎毒性	EP_KD01	腎機能障害	腎の傷害・機能障害



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	

## 工：肝毒性、腎、血液をエンドポイントとしたインビボ毒性予測モデルの構築

### 【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  
1,000を超えるmordred記述子から、選択した15種
- B) イで構築された118個のTox21-MIE活性スコア予測モデルのうち、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
- C) ウで構築された130のインビトロ予測モデルのうち、下記の条件を考慮した96種のモデルの予測値
- ・精度評価でbalanced accuracy $<$ 0.65を除外
  - ・ストレス応答のリアルタイム発光測定 of 細胞毒性モデルについて、Nrf2、NF- $\kappa$ B、ATF6などで情報が重複するためATF6のみを採用
  - ・ヒトP450を除外
- D) NOEL $\leq$ 30モデルのみ、同じエンドポイントのNOEL $\leq$ 300モデルの予測値

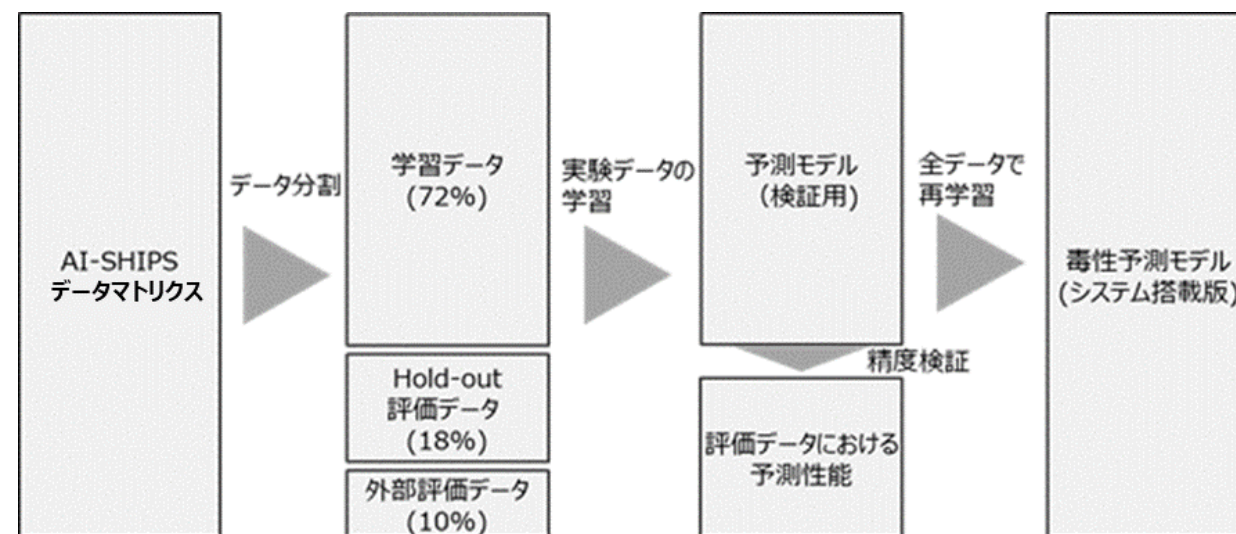
### 【モデル構築方法】

- データマトリクス中の約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（ランダムフォレスト、勾配ブースティング）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。

### 【学習データ】

#### 学習データの概要

エンドポイント	化合物数	NOEL $\leq$ 300モデル 陽性物質数（陽性率）	NOEL $\leq$ 30モデル 陽性物質数（陽性率）
EP_LV01	1917	794 (41.4%)	141 (7.4%)
EP_LV02	1922	722 (37.6%)	124 (6.5%)
EP_LV03	1921	764 (39.8%)	141 (7.3%)
EP_LV04	1922	777 (40.4%)	159 (8.3%)
EP_LV05	1911	1028 (53.8%)	315 (16.5%)
EP_LV06	1918	862 (44.9%)	242 (12.6%)
EP_BL01	1922	674 (35.1%)	117 (6.1%)
EP_BL02	1920	778 (40.5%)	184 (9.6%)
EP_KD01	1919	941 (49.0%)	221 (11.5%)



モデルのトレーニング方法の概要

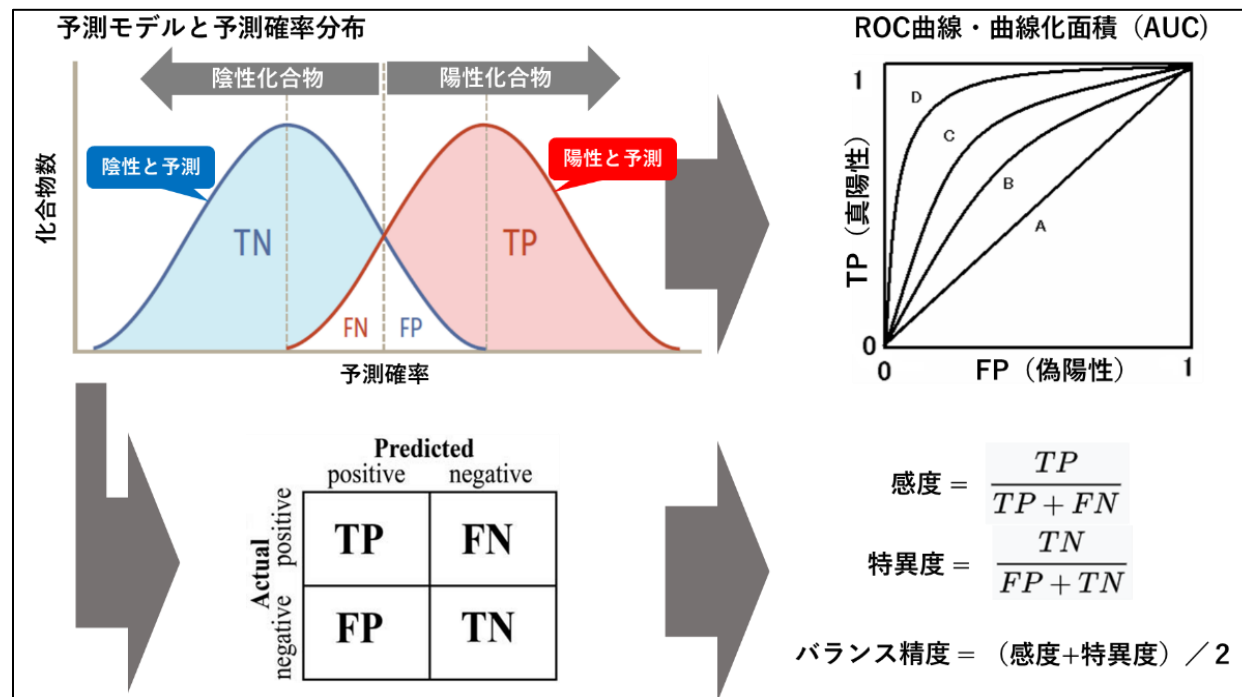


## 工：肝毒性、腎、血液をエンドポイントとしたインビボ毒性予測モデルの構築

### 【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。

### 予測性能の評価指標



### 毒性予測モデルのHold-out評価

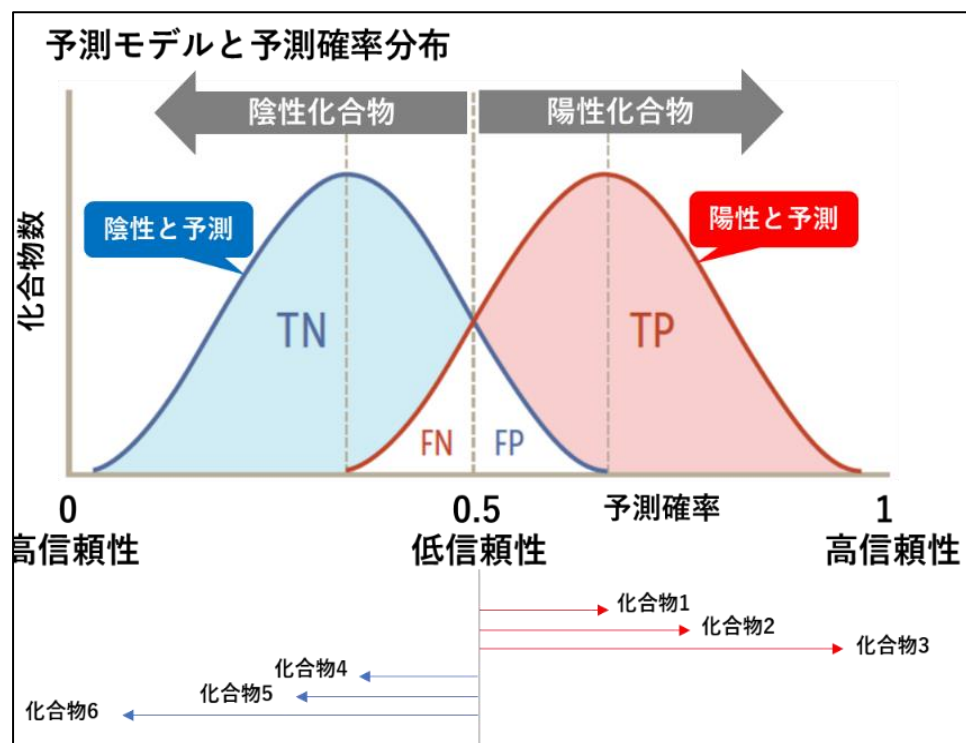
エンドポイント	NOEL ≤ 300モデル				NOEL ≤ 30モデル			
	BA	AUC	Sensitivity	Specificity	BA	AUC	Sensitivity	Specificity
EP_LV01_NOEL	0.738	0.784	0.726	0.749	0.768	0.805	0.708	0.827
EP_LV02_NOEL	0.716	0.748	0.669	0.762	0.706	0.716	0.667	0.746
EP_LV03_NOEL	0.755	0.807	0.800	0.710	0.738	0.799	0.833	0.642
EP_LV04_NOEL	0.720	0.754	0.714	0.725	0.733	0.785	0.556	0.91
EP_LV05_NOEL	0.727	0.766	0.746	0.708	0.705	0.771	0.786	0.623
EP_LV06_NOEL	0.730	0.780	0.730	0.730	0.777	0.788	0.854	0.700
EP_BL01_NOEL	0.729	0.801	0.817	0.640	0.718	0.763	0.947	0.489
EP_BL02_NOEL	0.734	0.793	0.802	0.667	0.791	0.824	0.742	0.839
EP_KD01_NOEL	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

## 工：肝毒性、腎、血液をエンドポイントとしたインビボ毒性予測モデルの構築

### 【モデル評価（外部評価）とAD】

- 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を適用領域（Applicability Domain; AD）として採用。
- 各モデルについて、この値以上の信頼性スコアを示した化合物の予測については、外部評価でhold-outと同等の汎化性能を持つことが示唆された。

【ADの定義】予測確立0.5からの距離の2倍  
( $0 \leq AD \leq 1$ )

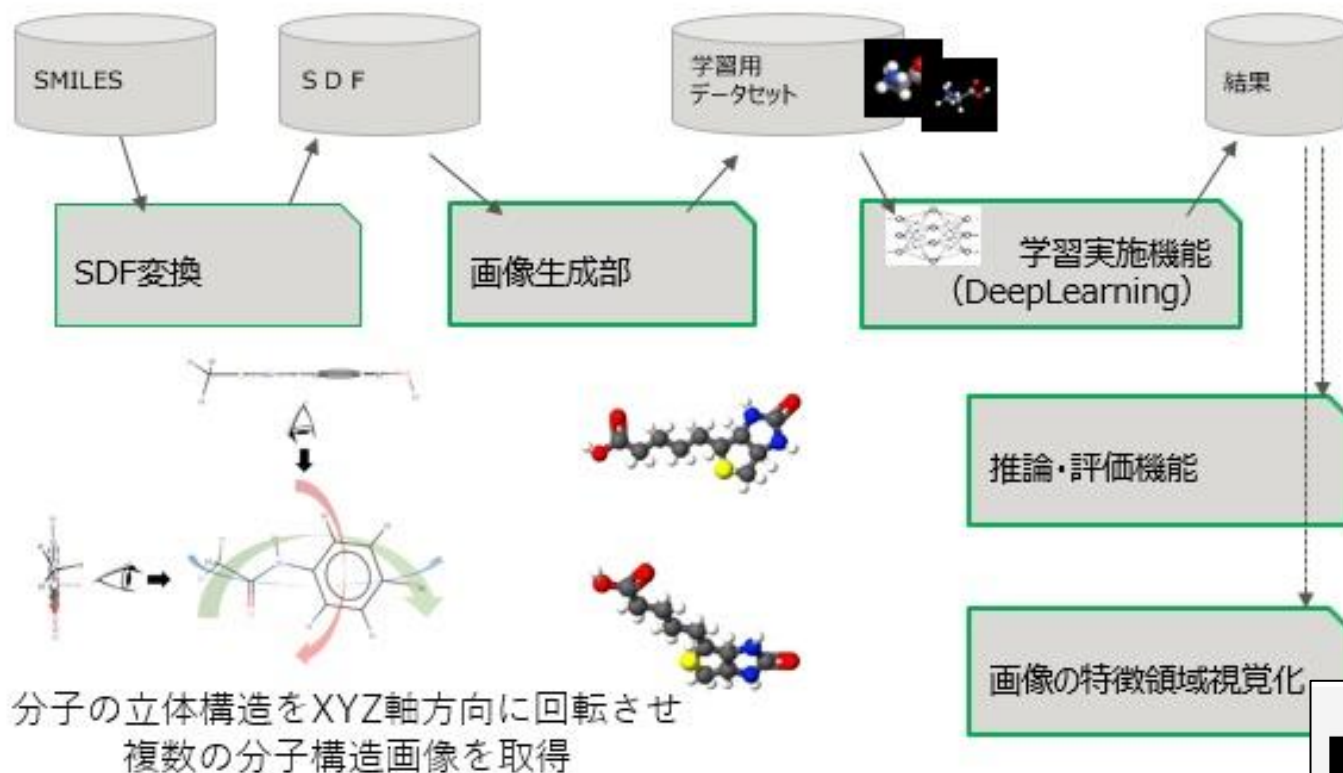


### 毒性予測モデルの外部評価結果（AD内）とAD内の定義に使用した信頼性スコアの閾値

エンドポイント	NOEL≤300モデル				NOEL≤30モデル			
	BA	AUC	ADの値	AD内カバー率	BA	AUC	ADの値	AD内カバー率
EP_LV01_N OEL	0.721	0.757	0.330	63.2%	0.749	0.759	0.370	47.3%
EP_LV02_N OEL	0.756	0.754	0.290	57.7%	0.912	0.947	0.370	31.9%
EP_LV03_N OEL	0.726	0.744	0.370	60.4%	0.727	0.682	0.049	40.1%
EP_LV04_N OEL	0.761	0.824	0.390	57.1%	0.671	0.713	0.224	71.4%
EP_LV05_N OEL	0.821	0.801	0.350	34.6%	0.718	0.826	0.119	69.2%
EP_LV06_N OEL	0.741	0.770	0.390	48.4%	0.824	0.880	0.247	44.5%
EP_BL01_N OEL	0.735	0.739	0.360	40.1%	0.637	0.670	0.078	50.5%
EP_BL02_N OEL	0.691	0.730	0.090	85.2%	0.706	0.753	0.243	76.9%
EP_KD01_N OEL	0.711	0.789	0.400	61.0%	0.733	0.599	0.396	35.7%
平均値	0.740	0.768			0.742	0.759		

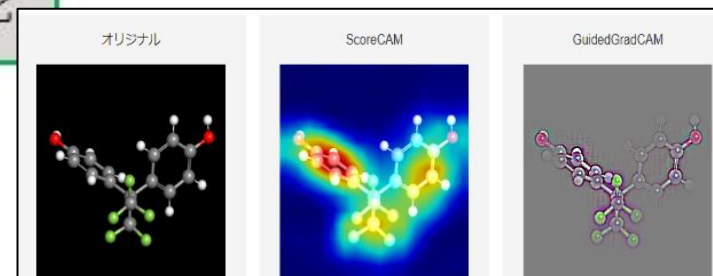
## オ: DeepSnap

- 分子の3D画像データを入力情報として学習し、毒性判別を行う「DeepSnap」をAI-SHIPS統合的毒性予測システムに実装した。
- 本システムでは、SMILESで作成した推定対象物質の構造を入力情報とし、SDF形式(SMILES、SDFは、いずれも化合物の構造表記法の1つ)への変換を行った後、画像生成から学習モデル作成までを一つの処理単位とし、複数のDeep Learning学習によるモデル生成を連続して自動実行する。また本システムは画像特徴領域可視化機能を備えている。



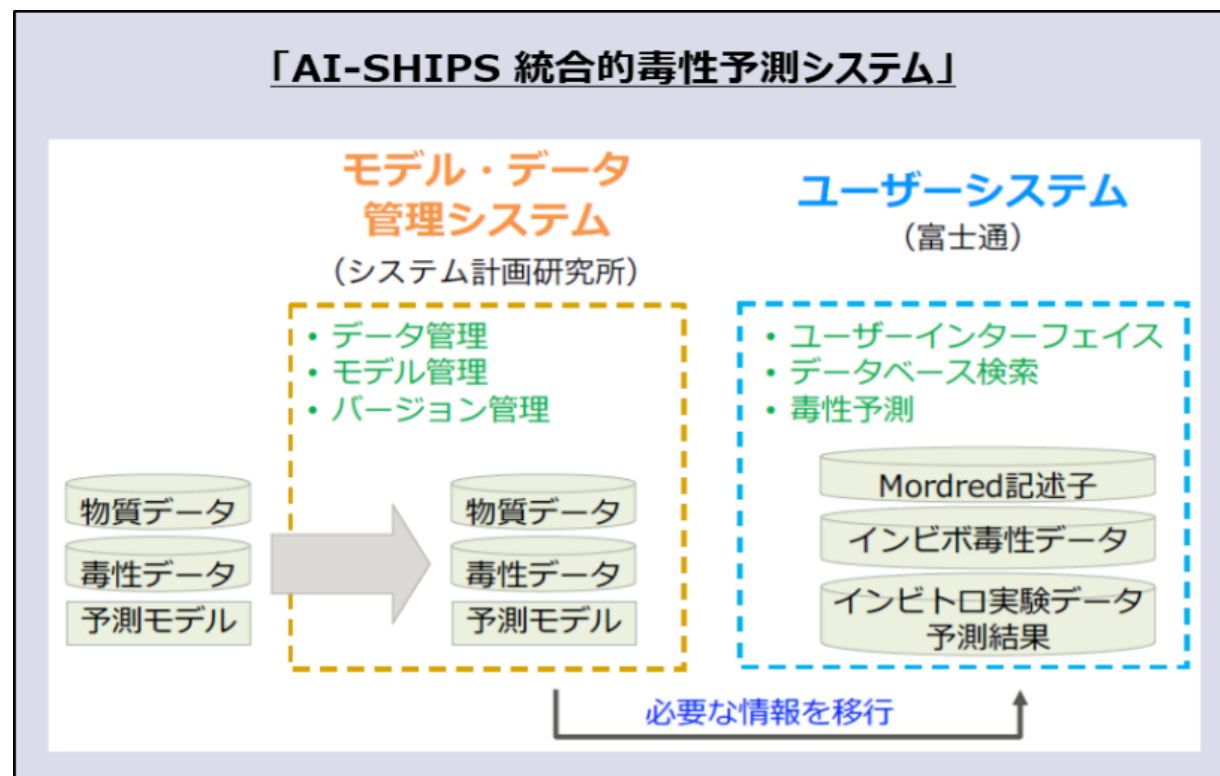
DeepSnapによる学習過程および画像特徴領域可視化の流れ

- 本システムを用いて研究開発項目①(b)で実験値を取得した初代培養ラット肝細胞を用いた7種類のCYP分子種の阻害活性に対する予測モデルを構築するとともに、特徴領域強調表示アルゴリズムCAMを用いてこれらの予測モデルに基づく活性に寄与する分子領域の着色を達成した。さらに、AI-SHIPS統合的毒性予測システムから本システムを利用するためのインターフェイス (WebAPI)を開発し、実装した。



## カ：AI-SHIPS統合的毒性予測システムの構築開発

- アのデータベース、イ～オの予測モデル、研究開発項目①(a)で開発した体内予測モデルを統合し、様々なインターフェース機能を持つAI-SHIPS統合的毒性予測システムを開発した。
- 単に化学構造を入力してその毒性や体内動態を予測するシステム（アプリケーション）を開発するのではなく、その基盤となるデータを閲覧かつ利用可能なシステムにすることを目的として開発を進めた。
- すなわち、反復投与毒性の予測、体内動態の予測、類似物質検索等を可能とするユーザーシステムとインビトロやインビボの詳細データやモデルの閲覧管理を可能とするモデル・データ管理システムで構成される。
- 機序情報を提示する反復投与毒性予測システムは極めて先進的で意義が大きい。



## ユーザーシステムの主要機能

項目	機能	概要
①	ラット反復投与毒性の予測	化学構造情報からラット28日間反復投与毒性（肝、腎、血液毒性）のNOEL値を予測
②	ラット体内動態の予測	化学構造情報と投与量からラットにおける体内動態（単回投与及び28日間反復投与）を予測
③	類似物質検索	検索物質と化学的・生物学的に類似した物質をデータベースから検索して毒性試験結果を表示
④	データベース検索	化学構造（部分一致検索）等の検索キーによるAI-SHIPSデータベースとユーザー登録データベースの検索