

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 6 月 1 日現在

機関番号：82626

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25871184

研究課題名(和文)QAAR(定量的活性活性相関)手法による化学物質等の有害性推論手法の開発

研究課題名(英文)Development of prediction methods for toxicity of chemical substances based on quantitative activity-activity relationship approaches

研究代表者

竹下 潤一 (Jun-ichi, Takeshita)

国立研究開発法人産業技術総合研究所・安全科学研究部門・主任研究員

研究者番号：60574390

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、化学物質の有害性の強さを予測する手法開発を行った。まず、(独)製品評価基盤機構の「初期リスク評価書」に記載のあるラットとマウスのデータを整理しデータセットを構築した。そして、次の2つの成果を得た。a) あるエンドポイントでの有害性の強さを他のエンドポイントでの有害性データから予測する統計モデルを、構造方程式モデリングを用いて開発した。b) 短期暴露実験での有害性データを長期暴露実験に外挿するための有害性換算係数(アセスメントファクタ)をエンドポイントごとに定量化した。また、データセットに基づく研究の他に、複数物質による複合暴露のリスク評価を定量的に行うための統計解析手法も構築した。

研究成果の概要(英文)：We have developed methodologies to predict toxicity level of chemical substances to conduct a risk assessment. First, we assembled existing toxicity data in rats and mice from "Initial Risk Assessment Report," released by Japan's National Institute of Technology and Evaluation. We used the data to construct a training dataset, which led to the following two achievements: a) development of a statistical model to predict toxicity level of an endpoint based on the toxicity data of other endpoints, using the structural equation modeling, and b) quantification of assessment factors for each endpoint, which can be used to extrapolate toxicity level of long-term toxicity tests from that of short-term toxicity tests.

Furthermore, other than the study based on the dataset, we have developed a statistical analysis method that allows a risk assessment of combined exposure to multiple chemicals to be expressed in quantified figures.

研究分野：応用数学

キーワード：化学物質 ヒト健康 有害性推論 QAAR(定量的活性活性相関) 統計解析

## 1. 研究開始当初の背景

現在、化学物質の有害性評価は動物実験の結果に基づいている。一方で、動物実験にかかる費用・期間の問題や、動物愛護の観点から、近年では国際的に動物実験代替法の需要が高まっている。日本においては、平成 22 年 10 月 8 日に開催された厚生労働省、経済産業省、環境省による三省合同審議会において、化学物質の有害性に関わる統計的推論手法導入の基本的考え方が示され、統計的な有害性推論手法をより積極的に活用する方針が打ち出されている。また、国際的には OECD (経済協力開発機構) が、長年にわたり有害性の推計手法のひとつである (Q) SAR ((定量的) 構造活性相関) の行政受入を推進するため、2003 年に (Q) SAR Expert Group を設立し、(Q) SAR の推進活動を展開している。

ここで、ヒト健康影響のリスク評価を行う際に必要となる無毒性量 (NOEL) 等を決定するための反復投与毒性に目を向けると、近年、(独) 製品評価技術基盤機構 (NITE) が中心となり、未試験化学物質の反復投与毒性の評価を支援する「有害性評価支援システム統合プラットフォーム (Hazard Evaluation Support System Integrated Platform)、通称 “HESS”」が開発された。しかし、具体的に NOEL 等を推定する定量的な手法の開発には至っていないのが現状である。すなわち、ヒト健康影響のリスク評価に資する有害性推論手法の開発は、国際動向により急務な研究課題であるにも関わらず、その研究はほとんど進んでいないと言える。その理由としては、反復投与毒性は毒性発現のメカニズムが極めて複雑である、もしくは不明であるため、化学物質等の構造や物理化学的性状と毒性発現との関連性を見いだすことが困難であるとの理解がある。

有害性推論手法の枠組みとして QAAR (定量的活性相関) なる概念がある。これは、既存インビボデータから、評価対象物質の知りたいエンドポイントでの NOEL 等を統計的に推定する手法である。そのため、既存インビボデータを最大限に有効活用できる枠組みであるとも言える。しかし、既存インビボデータはエンドポイントごとの充足度 (全化合物数に対して報告値がある化合物の割合) が極めて低いという特徴を有するため、統計的手法の困難さ等から QAAR 手法の具体的なモデル提案に関する研究は皆無であった。OECD 文章 (ENV/JM/MONO(2007)28) においても、QAAR アプローチは「同じ/異なる生物種での 2 つの生物学的特性を数式として関連づけたもの」と紹介されていると同時に、実施例は少ないとも記載されている。

## 2. 研究の目的

本研究では、既存インビボデータを解析可

能な形に整備し、QAAR アプローチの具体的な統計モデルの構築・提案を行う。また、提案モデルの推定精度の定量化を行い、化学物質等のリスク評価が可能となる信頼性の高い QAAR アプローチに基づく有害性推論手法を確立することを目的とする。

## 3. 研究の方法

NITE が公開している「初期リスク評価書」に記載のあるラット及びマウスのインビボデータをベースとし、本研究を遂行するためのトレーニングデータセットを構築する。構築したデータセットを、統計的な手法を用いて解析することで、既存インビボデータを最大限に活かして、化学物質等の有害性の強さを予測する手法開発を行う。

また、本研究で得られた結果は国内外の研究会・学会で積極的に発表することで、関連分野の研究者と意見交換の機会を得、研究の更なる展開を探る。さらに、得られた成果はまとめ、査読有の国際誌に投稿する。

## 4. 研究成果

以下に研究期間中に得られた成果の概要を説明する。

(1) NITE が公開している「初期リスク評価書」に記載のあるラット及びマウスのインビボデータを、解析可能な形に整備することで、本研究で用いるトレーニングデータセットを構築した。具体的には、化合物ごとに評価書内に記載のある NOEL をエンドポイント別に整理した。

(2) 構造方程式モデリングにより、(1) で構築したデータセットが有する共分散構造を推定し、その構造を元に QAAR モデルの最良予測式を決定するアプローチを提案した。そして、提案アプローチに沿って具体的に QAAR モデルを構築した。また、そのモデルの推定精度を Leave-one-out 法を用いることで OECD の QSAR モデルのバリデーション原則に沿って検証を行った。その結果、すでに行政における委員会等の参考資料として使われている生態毒性の QSAR モデルと比べても、十分に高い推定精度あることが確認された。

(3) (1) のデータセットから、肝臓影響、腎臓影響、体重影響、血液影響のいずれかに係わる NOEL を抽出し、a) 亜急性毒性試験によるもの、b) 亜慢性毒性試験によるもの、c) その他の 3 つカテゴリーに細分化した。そして、上記 4 つの影響に関して、亜急性毒性試験の NOEL から亜慢性毒性試験の NOEL を外挿するための有害性換算係数 (アセスメントファクタ) をエンドポイントごとに定量化した。

(4) 一般に有害性換算係数は、次の2つの寄与であることが知られている。a)同様の影響がより低い用量で発現すること、b)異なる影響が発現しそれがより低い用量であること。(3)において暴露期間ごとに細分化した NOEL のデータセットを統計的に解析することで、臓器ごとというくくりで見れば有害性換算係数は a)の寄与が支配的であることを明らかにした。

(5) (1)-(4)の研究の他に、複数物質による複合暴露のリスク評価を定量的に行うための統計解析手法の研究を行った。具体的には、複数物質を同時に実験動物に暴露した際の影響率の予測値を区間推定する解析的手法を確立した。また、その応用として、複合影響評価手法でスタンダードとなっている濃度加算法(CAモデル)による予測と、実際の複合暴露実験結果とが一致しているか否かを判定する手法を提案した。本提案手法の妥当性を検証するために、提案手法による解析的な計算結果と、多くの研究者が採用しているシミュレーションによる結果との比較を行った。この検証は、仮想データとメダカを用いた複合暴露実験の実データのそれぞれを用いて行った。そして、いずれのデータの場合においても、本研究で提案した解析的方法による予測値とシミュレーションによる予測値とが類似しているという結果を得た。

#### 今後の展開

本研究の実施中に、HESS に内蔵されている化学物質の有害性データを NITE から提供していただけることとなった。HESS は、GLP に基づくラット 28 日間反復投与毒性試験データがコアデータとなっており、信頼性の高い既存インビボデータが含まれている。高精度な化学物質等の有害性推論手法を確立していくためには、信頼性の高いインビボデータが必須である。そこで、2016 年度以降の科学研究費研究課題等で、HESS データをベースとした化学物質等の有害性推論手法の研究に本格的に取り組む予定である。

#### 5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計6件)

Hidenori Tani, Jun-ichi Takeshita, Hiroshi Aoki, Ryosuke Abe, Akinobu Toyoda, Yasunori Endo, Sadaaki Miyamoto, Masashi Gamo, and Masaki Torimura, Genome-wide gene expression analysis of mouse embryonic stem cells

exposed to *p*-dichlorobenzene, Journal of Bioscience and Bioengineering, 査読有, 2016 (in press)  
DOI: 10.1016/j.jbiosc.2016.02.007.

Jun-ichi Takehista, Masanori Seki, Masashi Kamo, Criteria deviation from predictions by the concentration addition model, Environmental Toxicology and Chemistry, 査読有, 2016 (in press)  
DOI: 10.1002/etc.3334.

Sadaaki Miyamoto, Ryosuke Abe, Yasunori Endo, and Jun-ichi Takeshita, Ward method of hierarchical clustering for non-Euclidean similarity measures, Proceedings of the 2015 Seventh International Conference of Soft Computing and Pattern Recognition (SoCPaR 2015), 査読有, 2015, pp. 60-63.

Jun-ichi Takeshita, Atsuo Kishimoto, Masashi Gamo, Investigation of organ-specific factors related to sub-acute and sub-chronic toxicity studies, Fundamental Toxicological Sciences, 査読有, vol.1, pp.1-6  
[https://www.jstage.jst.go.jp/article/fts/1/1/1\\_1/\\_article](https://www.jstage.jst.go.jp/article/fts/1/1/1_1/_article)

Jun-ichi Takeshita, Masashi Gamo, Koji Kanefuji, and Hiroe Tsubaki, A quantitative activity-activity relationship model based on covariance structure analysis, and its application to inferring NOEL values of chemical substances, 査読有, vol. 5, pp.151-159.  
<http://j-mi.org/articles/view/297>

竹下潤一, 蒲生昌志, 鉛はんだ代替におけるリスクトレードオフ評価のための用量反応関係の導出, 統計数理, 査読有, vol. 61, pp.233-246  
<http://www.ism.ac.jp/editsec/toukei/tokeisuri-61j.html#N02>

[学会発表](計14件)

竹下潤一, 阿部亮介, 豊田章倫, 遠藤靖典, 宮本定明, 谷英典, 青木寛, 鳥村政基, 佐藤浩明, 蒲生昌志, 遺伝子発現データに基づく化学物質の類似性について, 日本動物実験代替法学会第28回大会, 2015年12月11日, ワークピア横浜(神奈川県・横浜市)

宮本定明, 阿部亮介, 豊田章倫, 遠藤靖

典, 竹下潤一, 非ユークリッド的類似度に対する階層的クラスタリング, 第6回横幹連合コンファレンス, 2015年12月6日, 名古屋工業大学(愛知県・名古屋市)

Sadaaki Miyamoto, Ryosuke Abe, Yasunori Endo, and Jun-ichi Takeshita, Ward method of hierarchical clustering for non-Euclidean similarity measures, 7th International Conference on Soft Computing and Pattern Recognition, 2015年11月13日, 九州大学(福岡県・福岡市)

竹下潤一, 構造方程式モデリングを用いた有害性推論手法の開発, CBI学会2015年大会, 第3回計算毒理学研究会: dryとwetの毒性研究インターフェース, 2015年10月27日, タワーホール船堀(東京都・江戸川区)

阿部亮介, 宮本定明, 遠藤靖典, 竹下潤一, 谷英典, mRNA機能のオントロジー構造に着目したクラスタリング, 第31回ファジイシステムシンポジウム, 2015年9月2日, 電気通信大学(東京都・調布市)

豊田章倫, 遠藤靖典, 宮本定明, 竹下潤一, 谷英典, 遺伝子発現データ間の相関関係を特徴づけるRNAの抽出アルゴリズムについて, 第31回ファジイシステムシンポジウム, 2015年9月2日, 電気通信大学(東京都・調布市)

竹下潤一, 吉成浩一, 中島宏之, 山田隆志, 蒲生昌志, 構造方程式モデリングによる化学物質応答性核内受容体のインビトロ評価結果とラットのインビボ肝毒性情報の関連解析, 第42回日本毒性学会学術年会, 2015年6月29日, 石川県立音楽堂/金沢市アートホテル/ホテル日航金沢(石川県・金沢市)

竹下潤一, 複合暴露リスク評価への取り組み, 化学物質の安全管理に関するシンポジウム-化学物質規制における新たな課題と背景-, 2015年2月6日, 中央合同庁舎第8号館(東京都・千代田区)

竹下潤一, 蒲生昌志, 定量的リスクトレードオフ解析と定量的活性活性相関(QAAR)手法の開発, 日本動物実験代替法学会第27回大会, 2014年12月7日, 横浜国立大学(神奈川県・横浜市)

Jun-ichi Takeshita, Masanori Seki, Masashi Kamo, and Kiyohiro Kubota, Proposing a basis on deviation from the chemical mixture models, The Society

of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC) North America 36th Annual Meeting, 2014年11月11日, Vancouver (Canada)

Hidenori Tani, Jun-ichi Takeshita, Hiroshi Aoki, Masashi Gamo, and Masaki Torimura, Genome-wide gene expression analysis by RNA-seq in murine embryonic stem cells, 9th World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Science, 2014年8月27日, Prague (Czech)

竹下潤一, 岸本充生, 蒲生昌志, 化学物質管理のための亜急性毒性試験と亜慢性毒性試験との比較, 第41回日本毒性学会学術年会, 2014年7月2日, 神戸コンベンションセンター(神戸市・兵庫県)

Jun-ichi Takeshita and Masashi Gamo, Proposing a framework of QAAR approaches for predicting the toxicity of chemical substances: A case study on predicting and extrapolating the missing NOEL values, Society for Risk Analysis (SRA) 2013 Annual Meeting, 2013年12月8日, Baltimore (USA)

Jun-ichi Takeshita, Masashi Gamo, Koji Kanefuji, and Hiroe Tsubaki, QAAR modeling using covariance structure analysis and its application to calculating NOEL values and relative toxicity values, The Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC) Europe 23rd Annual Meeting, 2013年5月16日, Glasgow (United Kingdom)

〔その他〕  
ホームページ等  
・個人

<https://staff.aist.go.jp/jun-takeshita/index.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

竹下 潤一 (Jun-ichi Takeshita)  
国立研究開発法人産業技術総合研究所・安全科学研究部門・主任研究員  
研究者番号: 60574390

### (2) 研究分担者 なし

### (3) 連携研究者 なし