

令和元年5月8日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K09200

研究課題名(和文) 危険ドラッグの血中致死濃度予測モデルの構築

研究課題名(英文) Development of prediction model of fatal blood concentrations for designer drugs

研究代表者

坂 幹樹 (Saka, Kanju)

東京大学・大学院医学系研究科(医学部)・技術専門職員

研究者番号：30447388

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：死亡事例が多く報告され、その血中致死濃度が信頼できる薬物データを用いて、血中致死濃度予測モデルの最適な作成手順を検討した。予測モデル構築には、定量的構造活性相関を用いた。様々なモデルを作成した結果、対象薬物ごとに最適なデスクリプタは異なっていた。そこで、我々は薬物ごとに予測方程式を作り変える方法を考案した。既知の致死濃度データ全てを用いるのではなく、予測対象薬物と構造の類似する薬物を類似度検索で抽出し、そのデータのみを使用してモデルを構築する方法である。この手順の導入によって予測精度が向上し、新規の薬物に対しても構造の類似する薬物データを用いれば、より良い予測モデルを構築できると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

法医鑑定において、薬物が死因に寄与したかどうかを判断するために、該当試料の血液中濃度と文献記載の中毒・致死濃度が比較検討される。しかし、致死濃度が判明していない危険ドラッグなどの新規薬物では判断が難しくなる。これらの問題を解決するために、本研究では、薬物の血中致死濃度予測モデルの構築を試みた。本研究によって、新規の薬物に対しても、その致死濃度を推測することが可能になった。また、in silicoを用いた理論的なアプローチであるため、危険ドラッグのように薬物の側鎖を少し変化させたときの化学構造とその毒性との関連性を考察することが可能になった。

研究成果の概要(英文)：We examined the best processes for building a model predicting fatal blood concentrations using reliable fatal blood concentration data where many fatal cases have been reported. Quantitative structure-activity relationship was used to build the prediction models. As a result of creating various models, the optimal descriptors were different for each target drug. Therefore, we devised a method to create a prediction equation for each drug. In this method, instead of using all known fatal concentration data, drugs whose structures are similar to that of the target drug are extracted by similarity search, and a model is built using only the extracted data. The introduction of this procedure improved the prediction accuracy, and it was considered that a better prediction model could be built by using drug data with similar structure even for new drugs.

研究分野：法中毒学

キーワード：予測モデル 血中致死濃度 危険ドラッグ QSAR

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 近年、日本のみならず海外においても危険ドラッグの乱用が深刻な社会問題となっており、死に至るケースも急速に増加しているため、警察や救急の現場だけでなく、法医鑑定においても大変重要な課題である。危険ドラッグは法規制されると速やかに市場から姿を消し、化学構造を少し変えた合法的な化合物として新たに市場に出回るといった特徴がある。その移り変わりのスピードは速く、動物実験による毒性の評価や人における薬物動態などのデータの蓄積が新しいドラッグが出回るスピードに追いつかない状況であった。

(2) 法医鑑定においては、薬物が死因に寄与したかどうかを判断するためには薬物の血中濃度が最も良く用いられる。しかし、危険ドラッグに代表される新規薬物においては、死亡時の血中濃度データがないものが多く、判断が難しい。しかも、覚せい剤や麻薬より強力な毒性を持ち、かなり低濃度でも死に至る薬物が散見されるようになった。従って、今後出回る新しい危険ドラッグの化学構造式と血中濃度から、その毒性や死因への寄与を迅速に判断することが可能な客観的指標を構築できれば、非常に有用であると考えられた。

2. 研究の目的

(1) 本研究では、血中致死濃度がわかっていない危険ドラッグのような新規薬物でも、予測に基づいた判断を可能とすることを目的に、定量的構造活性相関 (Quantitative Structure-Activity Relationship: QSAR) の手法を用いて、薬物の化学構造と死亡時の血中濃度との関連性を検討し、血中致死濃度予測モデルの構築を試みた。いったん予測モデルが構築されると、新たな薬物であっても化学構造式からの情報から致死濃度を推測し、死因への寄与を議論することが可能になる。

(2) QSAR においては、既知の血中致死濃度データが重要となるが、これらはケースレポートを蓄積したものであり、厳密な実験により得られたものではないので、やや不安定な値である。また、それぞれの薬物においては、その薬理作用を発生する機序が様々である。これらの理由から、モデル構築のプロセスは通常の QSAR より複雑になることが予想されるため、モデル作成の手順を重点的に検討した。

3. 研究の方法

(1) Schulz らの論文 (Critical Care 2012, 16: R136) に記載されている約 1000 薬物の中で致死濃度が記載されている 251 薬物をデータとして使用した。致死濃度の範囲の中で最も低い値を致死濃度と定義した。

(2) データ解析ソフトウェアは、ADMEWORKS/ModelBuilder (富士通九州システムズ) を使用し、QSAR により予測モデルを構築した。デスクリプタを選択するために、missing value test、zero test、correlation test、genetic algorithm、particle swarm optimization といった特徴抽出を実施した。

(3) 死亡事例が多く報告されており、その血中致死濃度が信頼できる 3 薬物、methamphetamine、chlorpromazine、phenobarbital を予測対象薬物として、血中致死濃度予測モデルの最適な作成手順を検討した。

(4) 次の 4 つの手順でモデルを作成し、それぞれの致死濃度を比較・検討した。

モデル A (Methamphetamine)

methamphetamine を除く 250 の薬物全てのデータを用いてモデルを作成

モデル B (Methamphetamine)

類似度検索を用いて、methamphetamine を除く 250 薬物から methamphetamine と構造の類似する上位 20 の薬物を抽出し、そのデータを用いてモデルを作成

モデル C (Chlorpromazine)

類似度検索を用いて、chlorpromazine を除く 250 薬物から chlorpromazine と構造の類似する上位 20 の薬物を抽出し、そのデータを用いてモデルを作成

モデル D (Phenobarbital)

類似度検索を用いて、phenobarbital を除く 250 薬物から phenobarbital と構造の類似する上位 20 の薬物を抽出し、そのデータを用いてモデルを作成

4. 研究成果

(1) デスクリプタを選択する際に、特徴抽出の手順を変更すると選ばれたデスクリプタが変わるため、A、B、C、D の各モデルを数十通り作成し、予測値が文献値に近い上位 5 つずつを選択して比較・検討した。それぞれの予測致死濃度の平均値と範囲、文献の致死濃度、(文献値に

対する予測値の) 相対誤差を Table 1 に示した。

Table 1 モデル A、B、C、D における各薬物の予測致死濃度 (平均値及び範囲)、文献致死濃度及び相対誤差

モデル	予測致死濃度 ($\mu\text{g/mL}$)		文献致死濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	相対誤差* (%)
	平均値	範囲		
A (Methamphetamine)	-24.5	-35 ~ -8.1	1.0	2550
B (Methamphetamine)	-1.48	-6.4 ~ 3.2	1.0	248
C (Chlorpromazine)	1.82	-1.8 ~ 5.1	3.0	39
D (Phenobarbital)	21.5	16 ~ 29	50	57

* 相対誤差 : (文献致死濃度 - 予測致死濃度平均値) / 文献致死濃度

(2) 各モデルの予測精度を比較

モデル A とモデル B を比較すると、B の予測値の方が A より文献値に近いことから、化学構造の類似した薬物のみでモデルを作成する方が、サンプル数が減少しても予測精度が高くなると思われた。構造の似ていない薬物がモデルに多く含まれるとその不要な情報から適切ではないデスクリプタをモデルに採用してしまうのが原因と思われる。

モデル B、C、D を比較すると、それぞれの予測値の相対誤差はモデル C が最も良く、モデル B が最も悪かった。これは、類似度検索で抽出された薬物の類似度 (Table 2) と関連性があると思われた。よって、構造類似薬物の致死濃度データが集まるほど予測精度が上がると考えられる。

Table 2 類似度検索によって 250 薬物から抽出された上位 20 薬物の類似度 (平均値と範囲)

モデル	抽出された 20 薬物の類似度	
	平均値	範囲
Methamphetamine (B)	0.875	0.791 ~ 0.963
Chlorpromazine (C)	0.896	0.848 ~ 0.991
Phenobarbital (D)	0.886	0.798 ~ 0.956

(3) 本研究は、QSAR を用いて血中致死濃度予測モデルの構築を試み、モデルの構築は全てのデータを用いるのではなく、類似度検索によって化学構造の似ている薬物のデータに絞り込んでから解析を進める方が予測精度が向上することを見出した。また、この方法は予測する薬物ごとに予測方程式を作り変えるため、1 つの固定した方程式で予測するより、危険ドラッグなどの新しい薬物に対しても柔軟な予測モデルを作成できると考えられる。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 5 件)

Nara A, Saka K, Yamada C, Kodama T, Takagi T. Forensic analysis using ultra-high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry with solid-phase extraction of α -solanine and α -chaconine in whole blood. *Forensic Toxicol.* 2019; 37: 197-206. 査読有
DOI: 10.1007/s11419-018-0452-7

Torimitsu S, Fujii Y, Saka K, Abe H, Makino Y, Chiba F, Iwase H. Fatal intoxication with 1,1-difluoroethane (DFE) due to inhalation of a spray cleaner: analysis by GC-MS. *Forensic Toxicol.* 2019; 37: 245-249. 査読有
DOI: 10.1007/s11419-018-0435-8

Nara A, Yamada C, Kodama T, Saka K, Takagi T. Fatal poisoning with both dichlorvos and phenthoate. *J Forensic Sci.* 2018; 63: 1928-1931. 査読有
DOI: 10.1111/1556-4029.13781

Nagano M, Kohsaka S, Ueno T, Kojima S, Saka K, Iwase H, Kawazu M, Mano H. High-throughput functional evaluation of variants of unknown significance in ERBB2. *Clin Cancer Res.* 2018; 24(20): 5112-5122. 査読有
DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-18-0991

Shintani-Ishida K, Saka K, Nakamura M, Yoshida K, Ikegaya H. Experimental study on the postmortem redistribution of the substituted phenethylamine, 25B-NBOMe. *J Forensic Sci.* 2018; 63(2): 588-591. 査読有

〔学会発表〕(計7件)

坂 幹樹、法医中毒学への *in silico* モデル活用事例：マトリックス効果予測・保持時間予測・薬物血中致死濃度予測、情報計算化学生物学会（CBI学会）、招待講演、2018年

Saka K, Kudo K, Makino Y, Ikeda N, Iwase H. *In silico* modeling to predict fatal blood concentrations of drugs (preliminary study). 56TH Annual meeting of the international association of forensic toxicologists (TIAFT) 2018、国際学会、2018年

坂 幹樹、工藤 恵子、榎野 陽介、池田 典昭、岩瀬博太郎、薬物の血中致死濃度予測モデルの検討、日本法中毒学会第37年会、2018年

Saka K, Nakazono Y, Kudo K, Minohata T, Hirano I, Furuta K, Fujii Y, Makino Y, Ikeda N, Iwase H. A state-of-the-art retention time prediction model for non-target drug screening. 24th Congress of the International Academy of Legal Medicine (IALM)、国際学会、2018年

坂 幹樹、中園 裕紀子、工藤 恵子、箕畑 俊和、兼城 昌敏、平野 一郎、古田 一匡、藤井 祐介、榎野 陽介、池田 典昭、岩瀬 博太郎、*In silico* を用いたノンターゲット血中薬物スクリーニング法の構築（第2報）、日本法中毒学会第36年会、2017年

坂 幹樹、ACD/MS Structure ID Suite, ACD/ChromGenius を用いた LC/MS 血中薬物スクリーニング法の構築、ACD/Labs 日本ユーザー会 2016、招待講演、2016年

坂 幹樹、中園 裕紀子、工藤 恵子、箕畑 俊和、兼城 昌敏、平野 一郎、古田 一匡、藤井 祐介、榎野 陽介、池田 典昭、岩瀬 博太郎、*In silico* による LC/MS を用いた血中薬物スクリーニング法の構築、日本法中毒学会第35年会、2016年

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

該当なし

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：工藤 恵子

ローマ字氏名：(KUDO, keiko)

所属研究機関名：九州大学

部局名：医学研究院

職名：講師

研究者番号(8桁)：10186405

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：岩瀬 博太郎

ローマ字氏名：(IWASE, hirotaro)

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。