

平成29年度  
食品安全確保総合調査

*in silico* 評価支援ツールの現状に関する調査

成果報告書(公開版)

平成 30 年 3 月

一般財団法人 化学物質評価研究機構

# 目次

調査の概要.....	1
1. 調査の目的及び実施方法等.....	2
1.1. 調査の背景及び目的.....	2
1.2. 調査方法等.....	3
1.2.1. 本調査の実施内容.....	3
1.2.2. 有識者による検討会.....	3
1.2.3. 調査対象とする遺伝毒性評価のための評価支援ツールの選定.....	4
2. 検討対象とする評価支援ツールの概要について.....	5
2.1. OECD Toolbox.....	6
2.1.1. OECD Toolbox の特徴.....	6
2.1.2. トレーニングデータセットについて.....	11
2.1.3. 予測エンドポイントについて.....	11
2.1.4. アルゴリズムについて.....	12
2.1.5. 適用範囲について.....	12
2.1.6. 適合度、頑健性、予測性等について.....	13
2.1.7. 既知見情報に関するデータベースについて.....	13
2.1.8. 代謝物シミュレータについて.....	14
2.1.9. 予測を行う際に入力可能な情報及び予測のための設定.....	15
2.1.10. 出力される情報等について.....	15
2.2. VEGA.....	17
2.2.1. VEGA の概要.....	17

2.2.2. トレーニングデータセットについて .....	18
2.2.3. 予測エンドポイント .....	18
2.2.4. アルゴリズムについて .....	19
2.2.5. 適用範囲について .....	22
2.2.6. 適合度、頑健性、予測性等について .....	25
2.2.7. 予測に必要な情報及び予測のための設定 .....	25
2.2.8. 出力される情報等について .....	26
2.3. T.E.S.T. ....	28
2.3.1. T.E.S.T.の特徴 .....	28
2.3.2. モデル構築に用いたデータセットについて .....	29
2.3.3. 予測エンドポイントについて .....	29
2.3.4. アルゴリズムについて .....	29
2.3.5. 適用範囲について .....	32
2.3.6. 適合度、頑健性、予測性等について .....	33
2.3.7. 予測を行う際に入力可能な情報及び予測のための設定 .....	33
2.3.8. 出力される情報等について .....	34
3. 参考文献 .....	35
4. 用語集 .....	38

## 調査の概要

---

本事業は、入手可能な複数の遺伝毒性(Q)SAR ツールを用いて試験的に毒性を推定し、ツールの出力結果を整理し、既存のツールの特性(入力・出力様式、条件設定等)等を把握して、食品健康影響評価における遺伝毒性(Q)SAR ツールの有効な組合せ方法を検討するために有益な基礎情報を得ることを目的として実施した。なお、調査の実施にあたっては、有識者から構成される検討会を開催するなどして、調査方針、内容、とりまとめ等を確認して実施した。

# 1. 調査の目的及び実施方法等

---

## 1.1. 調査の背景及び目的

---

### 食品安全委員会における取組み

食品安全委員会では、評価技術企画ワーキンググループにおいて取りまとめた「新たな時代に対応した評価技術の検討～化学物質の毒性評価のための(Q)SAR 及び Read across の利用～」と題した報告書を2017年7月に公表した。同報告書においては、今後、食品安全委員会が速やかに実施すべき取組として、化学構造や毒性情報などを多数収載したデータベースと予測モデルを搭載したソフトウェア(評価支援ツール)を試験的に使用して、食品健康影響評価に対する適用可能性を確認し、その結果から、評価支援ツールの有効な組合せ方法等を検討することが提言されている。

遺伝毒性(Q)SARについては、主に医薬品、化粧品、一般工業化学物質等の毒性推定を目指して開発されてきた経緯があり、食品安全委員会が取り扱う化学物質の毒性を推定する目的で構築されたものではない。しかし、食品安全委員会が取り扱う化学物質と、医薬品等の化学構造の共通性もしくは類似性から、既存ツールを組合せて使用することにより、精度よく推定できる化学物質群及び毒性エンドポイントがあることが想定される。

### 本事業の目的

本事業では入手可能な複数の遺伝毒性(Q)SAR ツールを用いて試験的に毒性を推定し、ツールの出力結果を整理し、既存のツールの特性(入力・出力様式、条件設定等)等を把握して、食品健康影響評価における遺伝毒性(Q)SAR ツールの有効な組合せ方法を検討するために有益な基礎情報を得ることを目的とする。

具体的には、以下の項目を実施する。

- (1) 有識者から構成される検討会の設置
- (2) 評価支援ツールを用いた毒性推定結果等の収集
- (3) 調査結果の報告会開催
- (4) 成果物の作成

## 1.2. 調査方法等

### 1.2.1. 本調査の実施内容

本調査では、以下に示す①～③の検討を実施した。

- ① 評価支援ツールの概要整理
- ② 食品安全分野における既存の評価支援ツールの適用性等に関する検討
- ③ 評価支援ツールの組合せに関する検討

なお、本報告書では、個人及び企業の知的財産権が開示され、特定の者に不当な利益又は不利益をもたらすおそれがある情報の取扱いに配慮する必要から①の内容の一部について記載する。

### 1.2.2. 有識者による検討会

評価支援ツールから出力された毒性推定結果に基づき、ツールの特性に関する情報を整理・検討するために、毒性学(遺伝毒性を専門とする者を含む)、化学物質のリスク評価方法(*in silico*による毒性評価方法を含む)、化学物質の毒性データベース等に関する有識者として、3名の有識者を招聘した(表 1.2-1)。

表 1.2-1 検討会の有識者

専門分野	氏名	所属
遺伝毒性、 (Q)SAR 等	本間正充	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 変異遺伝部 部長
リスク評価方法等	広瀬明彦	国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 安全性予測評価部 部長
(Q)SAR、 read-across 等	山田隆志	国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 安全性予測評価部 第四室長

検討会における主な協議事項を表 1.2-2 に示す。

表 1.2-2 検討会での主な協議事項

検討会	主な協議事項
第 1 回検討会 (2017 年 12 月 25 日)	● 本調査事業での調査方針について ● 調査対象とする評価支援ツールについて 等
第 2 回検討会 (2018 年 2 月 19 日)	● 第1回検討会における指摘事項への対応について 等

### 1.2.3. 調査対象とする遺伝毒性評価のための評価支援ツールの選定

遺伝毒性評価に利用可能と考えられる評価支援ツールのうち、国内外のリスク評価機関で開発または遺伝毒性評価において運用実績があるいくつかの市販ツールの他、OECD QSAR Toolbox（以下 OECD Toolbox）、VEGA、T.E.S.T.を選定した。

## 2. 検討対象とする評価支援ツールの概要について

---

本調査で検討対象とした OECD Toolbox、VEGA 及び T.E.S.T の概要について整理した。整理の方針としては、まず、各評価支援ツールの構築に用いられたデータセット（トレーニングデータセット）<sup>1</sup>を明らかにした上で、以下に示す OECD の(Q)SAR モデル検証の原則（OECD, 2007）に該当する内容を記載するよう努めた。ただし、遺伝毒性に関わるエンドポイントの場合、原則 5 のメカニズムの説明については、予測対象となる物質に依存するため、情報整理の対象としていない。

### OECD (Q)SAR モデル検証の原則（OECD, 2007）

1. エンドポイントの定義（a defined endpoint）
2. 曖昧さのないアルゴリズム（An unambiguous algorithm）
3. 適用範囲の定義（a defined domain applicability）
4. 適合度、頑健性及び予測性の適切な評価（Appropriate measures of goodness-of-fit, robustness and predictivity）
5. 可能ならば、メカニズムに関する解釈（a mechanistic interpretation, if possible）

---

<sup>1</sup> 統計ベースの場合には「トレーニングデータセット」、知識ベースの場合には「リファレンスデータセット」等の使い分けをすることもあるが、本報告書では「トレーニングデータセット」で統一する。

## 2.1. OECD Toolbox

---

### 2.1.1. OECD Toolbox の特徴

---

「The OECD QSAR Toolbox for Grouping Chemicals into Categories (以下、OECD Toolbox)」は、2008年にリリースされたグルーピングに基づく予測などを目的とした無償の評価支援ツールである。開発についてはOECD Chemical Committeeの有害性評価に関わるOECDタスクフォースのOECD QSAR Application Toolboxのマネジメントグループによって管理されている。このマネジメントチームには、OECD加盟国のステークホルダー、欧州化学品庁 (ECHA)、化学産業界、NGO等が含まれている。OECD Toolboxには、2次元構造に基づいて化学物質の性質をプロファイリングする「Profiler」と呼ばれる機能があり、規制当局が評価対象とする毒性エンドポイント毎にProfilerがある。OECD ToolboxにおけるProfilerは、本来的には毒性予測を目的とはしておらず、免責条項 (disclaimer) において「They are not recommended to be used directly for prediction purposes (as SARs) (構造活性相関のように予測を行う目的で直接的にProfilerを用いることは推奨しない)」とされている。つまり、予測ツールとして活用する判断は使用者側に委ねられることになる。ここで、EFSAでは食品安全分野に関わる複数の評価において、遺伝毒性評価にOECD ToolboxのProfilerに搭載されているProfileを警告構造として利用している (例：EFSA CEF Panel (2011)：食品接触材料の加水分解生成物の評価に利用、EFSA ANS Panel (2015)：食品添加物の再評価に利用)。遺伝毒性に関わるProfilerは遺伝毒性データをもとに構築されているものがほとんどであり、予測に使用することを完全に否定するものではないと考えられる。また、ToolboxではProfileがヒットした際に根拠となる化学反応性等のメカニズムの知見が得られる点が利点としてあげられる。すなわち、予測を行う際に有用な知識情報が得られるものと考えられる。

さらに、OECD Toolboxの特徴として代謝物の推定が可能である点が挙げられる。有償ツールの場合、各ツール開発企業が代謝物予測のツールも提供しているが、無償で代謝物の予測が行える数少ない評価支援ツールである。

OECD Toolboxの特徴を以下に示す；

- 入力構造の代謝物の予測ができる。
- OECD 加盟国等から提供されたデータベースから毒性データ等が検索できる
- 新たなデータベース、Profiler の追加が可能である。
- Profiler の適用、データ検索のバッチ処理が可能である。エンドポイントによっては(Q)SAR による予測が可能である (現時点では、遺伝毒性に関する(Q)SAR

は登録されていない)。

OECD Toolbox の最新バージョン 4.1 には、以下の 8 つの遺伝毒性に関する Profiler がある。各 Profiler の概要を表 3.4-1 に示す。

- ① DNA binding by OASIS
- ② DNA binding by OECD
- ③ DNA alerts for AMES by OASIS
- ④ *in vitro* mutagenicity (Ames test) alerts by ISS
- ⑤ DNA alerts for CA and MN by OASIS
- ⑥ Protein binding alert for chromosomal aberration by OASIS
- ⑦ *in vivo* mutagenicity (Micronucleus) by ISS
- ⑧ Carcinogenicity (genotox and nongenotox) alert by ISS

表3.4-1 OECD Toolbox v.4.1における遺伝毒性に関するProfiler

Profilerの名称	Version	開発元	概要	Profileの数	トレーニングデータセット	参考文献
① DNA binding by OASIS	1.4	Laboratory of Mathematical Chemistry (LMC), Bourgas, Bulgaria	OASIS TIMESソフトウェアの「Ames Mutagenicity」モデル (Mekenyan O. <i>et al.</i> , 2004; Serafimova, R. <i>et al.</i> , 2007) に基づくDNA結合性に関する profiler。"DNA binding by OECD"、"DNA alerts for AMES by OASIS"、"DNA alerts for CA and MN by OASIS"及び"in vitro (Ames) alerts by ISS"と類似している。	85個	2,175物質 (うち陽性が1,226物質)	OECD (2017a)
② DNA binding by OECD	2.3	School of Pharmacy and Chemistry, Liverpool John Moore University, UK and donation from ECHA and OECD	既存の変異原性及び発がん性の警告構造の解析により得られたDNAとの共有結合に関連するProfiler	60個	文献の系統的なレビューにより開発されており、単一のデータセットによるものではない。	OECD (2017b)
③ DNA alerts for AMES by OASIS	2.3		ソフトウェアOASIS TIMESの「Ames Mutagenicity」モデルに基づくDNAと相互作用する分子に関するProfiler	85個	2,175物質	OECD (2017c)

Profilerの名称	Version	開発元	概要	Profileの数	トレーニングデータセット	参考文献
④ <i>in vitro</i> mutagenicity (Ames test) alerts by ISS	2.3	ISS team (Romualdo Benigni, Cecilia Bossa, Olga Tcheremenskaia) Donator: Istituto Superiore di Sanità (ISS), Rome, Italy	ToxtreeのMutagenicity/ Carcinogenicity モジュールに基づき作成されたAmes試験に関するProfiler	46個	遺伝毒性物質の作用機序に関する既知見に基づき作成された警告構造にChemical Carcinogenesis Research Information System (CCRIS) から抽出した7,367物質のAmes試験のデータセットを加えて改良されている。	OECD (2017d)
⑤ DNA alerts for CA and MN by OASIS	1.1	Laboratory of Mathematical Chemistry (LMC), Bourgas, Bulgaria	ソフトウェアOASIS TIMESの「Chromosomal aberration」モデル (Mekenyan O. <i>et al.</i> , 2004; Serafimova, R. <i>et al.</i> , 2007) からの、染色体異常及び小核試験に関連するDNAと相互作用する警告構造に基づくProfiler	85個	501物質	OECD (2017e)
⑥ Protein binding alert for chromosomal aberration by OASIS	1.3	Laboratory of Mathematical Chemistry (LMC), Bourgas, Bulgaria	例えば、トポイソメラーゼのような特定のたんぱく質と相互作用する物質の警告構造に基づくProfilerであり、 <i>in vitro</i> の染色体異常試験におけるDNA反応性ではない反応要素に基づく	33個	1,082物質の染色体異常試験データ	OECD (2017f)
⑦ <i>in vivo</i> mutagenicity	2.3	Romualdo Benigni, Cecilia	ToxtreeのToxMicルールベースに基づく、げっ歯類の <i>in vivo</i> 小核試験の影響	35個	In vitro mutagenicity (Ames test) alerts by ISSを中心とし	OECD (2017g)

Profilerの名称	Version	開発元	概要	Profileの数	トレーニングデータセット	参考文献
(Micronucleus) by ISS		Bossa, Olga Tcheremenskaia Donation : Institute for Health and Consumer Protection, Joint Research Centre - European Commission, Ispra, Italy; Istituto Superiore di Sanità (ISS), Rome, Italy	誘導に関するProfiler。 なお、 <i>in vitro</i> mutagenicity (Ames test) alerts by ISS及びCarcinogenicity (genotox and nongenotox) alerts by ISSのProfilerと の重複がある。		て、以下のデータを用いて 改良されている。 小核試験の結果550以上 (陽性：約400、陰性：約 150) 以下から入手可能（構造情 報を含む） <a href="http://www.iss.it/meca/index.php?lang=1&amp;id=199&amp;tipo=25">http://www.iss.it/meca/index.p hp?lang=1&amp;id=199&amp;tipo=25</a>	
⑧ Carcinogenicity (genotox and nongenotox) alert by ISS	2.3		遺伝毒性発がん性及び非遺伝毒性発が ん性を予測する、Toxtreeの対応モデル を更新・拡張したProfiler	55個(35個が Toxtree由来 で20個が追 加したもの)	既存のメカニズム情報に基 づく	OECD (2017h)

### 2.1.2. トレーニングデータセットについて

表 3.4-1 を参照されたい。

### 2.1.3. 予測エンドポイントについて

前述したように、OECD Toolbox における Profiler は、本来的には個別物質の毒性予測を目的とした使用は推奨されておらず、免責条項 (disclaimer) において「They are not recommended to be used directly for prediction purposes (as SARs) (構造活性相関のように予測を行う目的で直接的に Profiler を用いることは推奨しない)」とされている。しかし、表 3.4-1 に示したように各 Profiler の構築には、遺伝毒性に関する試験データが利用されており、Profile を警告構造とした予測を行うことを仮定する場合、これら Profiler 構築に利用された試験データが予測対象となるエンドポイントになると言える。各 Profiler により予測可能と考えられるエンドポイントを表 3.4-2 に示す。

表 3.4-2 8つの各 Profiler で予測可能と考えられる予測エンドポイント

Profilerの名称	予測エンドポイント
① DNA binding by OASIS	Ames試験の結果に基づくDNA結合性
② DNA binding by OECD	DNAとの共有結合性
③ DNA alerts for AMES by OASIS	Ames試験の結果に基づくDNA結合性
④ <i>in vitro</i> mutagenicity (Ames test) alerts by ISS	Ames試験の結果
⑤ DNA alerts for CA and MN by OASIS	染色体異常試験及び小核試験の結果に基づくDNA結合性
⑥ Protein binding alert for chromosomal aberration by OASIS	染色体異常誘発性
⑦ <i>in vivo</i> mutagenicity (Micronucleus) by ISS	<i>In vivo</i> の小核試験の結果
⑧ Carcinogenicity (genotox and nongenotox) alert by ISS	遺伝毒性発がん性及び非遺伝毒性発がん性

#### 2.1.4. アルゴリズムについて

---

各 Profiler に搭載されている部分構造の有無に基づき、当該エンドポイントの潜在的な反応性に関する情報が得られる。なお、本来は、Profile がヒットしないことは必ずしも「陰性」を意味するものではないことに留意が必要である。

#### 2.1.5. 適用範囲について

---

警告構造に基づく予測と考えるため、警告構造が入力構造に存在する場合は、適用範囲にあると考えられる。OECD Toolbox に格納されている各 Profiler の説明に関する文書から抽出した適用範囲に関する記載を表 3.4-3 に示す (OECD, 2017a~h)。各 Profiler は主に、有機化合物が対象となるが、Carcinogenicity (genotox and nongenotox) alert by ISS においては、金属も適用範囲内となっている (金属に関する Profile があるため)。

Profiler	適用範囲
① DNA binding by OASIS	<ul style="list-style-type: none"><li>• Profile がヒットした物質</li><li>• Organic chemicals</li></ul>
② DNA binding by OECD	<ul style="list-style-type: none"><li>• Profile がヒットした物質</li><li>• Organic chemicals</li><li>• MW が 1000 以下</li></ul>
③ DNA alerts for AMES by OASIS	<ul style="list-style-type: none"><li>• Profile がヒットした物質</li><li>• Organic chemicals</li></ul>
④ In vitro mutagenicity (Ames test) alerts by ISS	<ul style="list-style-type: none"><li>• 記載なし</li></ul>
⑤ Protein binding alerts for Chromosomal aberration by OASIS	<ul style="list-style-type: none"><li>• Profile がヒットした物質</li><li>• Organic chemicals</li></ul>
⑥ DNA alerts for CA and MN by OASIS	<ul style="list-style-type: none"><li>• Profile がヒットした物質</li><li>• Organic chemicals</li></ul>
⑦ In vitro mutagenicity (Micronucleus) alerts by ISS	<ul style="list-style-type: none"><li>• Profile がヒットした物質</li><li>• Organic chemicals</li></ul>
⑧ Carcinogenicity by ISS	<ul style="list-style-type: none"><li>• Profile がヒットした物質</li></ul>

### 2.1.6. 適合度、頑健性、予測性等について

---

予測を行うことを目的として開発されていないため、適合度、予測性等の検討は行われていないが、DNA binding by OECD 以外の Profiler については、OECD Toolbox に格納されている各 Profiler の説明に、Profiler となった部分構造の抽出に使用された物質数及びそのうちの陽性物質数が一覧として表示されている (OECD, 2017a~h)。

### 2.1.7. 既知見情報に関するデータベースについて

---

OECD Toolbox には、世界各国の規制当局や評価機関、企業等から提供された様々な毒性データベースが搭載されており、詳細を確認することで試験条件から文献情報までの知見を収集することができる。OECD Toolbox に搭載されているヒト健康影響に関わるデータベースを図 3.4.6-1 に示す。

なお、OECD Toolbox には自体が所有するデータベースを追加することも可能である。

- ▲ **Human Health Hazards**
- Acute Oral toxicity
- Bacterial mutagenicity ISSSTY
- Biocides and plant protection ISSBIOC
- Carcinogenic Potency Database (CPDB)
- Carcinogenicity&mutagenicity ISSCAN
- Cell Transformation Assay ISSCTA
- Dendritic cells COLIPA
- Developmental & Reproductive Toxicity (DART)
- Developmental toxicity ILSI
- ECHA CHEM
- ECOTOX
- ECVAM Genotoxicity & Carcinogenicity
- Eye Irritation ECETOC
- Genotoxicity OASIS
- Human Half-Life
- Keratinocyte gene expression Givaudan
- Keratinocyte gene expression LuSens
- Micronucleus ISSMIC
- Micronucleus OASIS
- MUNRO non-cancer EFSA
- REACH Skin sensitisation database (normalised)
- Receptor Mediated Effects
- Rep Dose Tox Fraunhofer ITEM
- Repeated Dose Toxicity HESS
- Rodent Inhalation Toxicity Database
- Skin Irritation
- Skin Sensitization
- Skin sensitization ECETOC
- ToxCastDB
- Toxicity Japan MHLW
- Toxicity to reproduction (ER)
- ToxRefDB US-EPA
- Transgenic Rodent Database
- Yeast estrogen assay database
- ZEBET database

図 3.4.6-1 OECD Toolbox(v.4.1)に搭載されている  
ヒト健康影響に関わるデータベース

### 2.1.8. 代謝物シミュレータについて

OECD Toolbox で利用可能な代謝やトランスフォーメーションに関わる機能を図 3.4.6-1 に示す。

遺伝毒性に関わる代謝物シミュレータとしては、*in vivo* のラットにける代謝物、ラットの肝 S9 による代謝物のシミュレータがある。OECD Toolbox には、毒性情報以外にも代謝に関わる既知見も搭載されているため、既存の代謝物質に関わる知見がある場合、「Observed」と記載された項目を選択することで既存の代謝物の知見が得られる。シミュレータによる代謝物及び既知見に基づく代謝物のいずれの結果を得た場合にも、代謝物に対する Profiler の適用や代謝物の既存の毒性情報の収集が可能である。

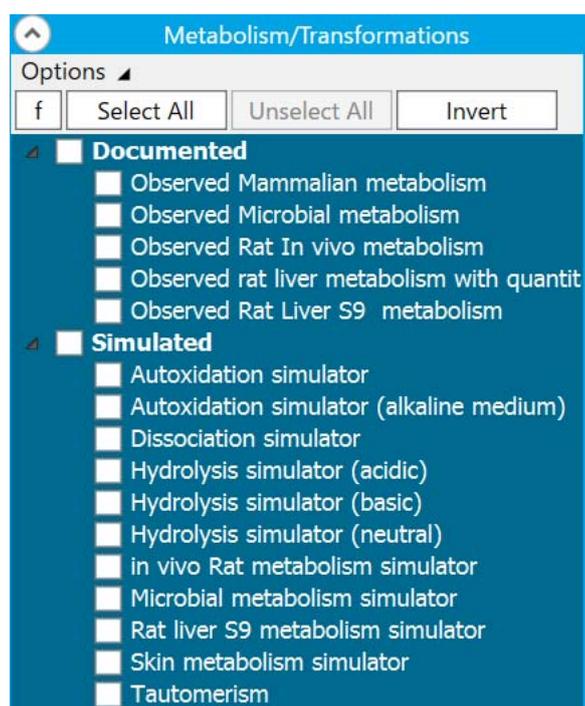


図 3.4.6-1 OECD Toolbox (v.4.1) で利用可能な代謝やトランスフォーメーションに関わる機能

### 2.1.9. 予測を行う際に入力可能な情報及び予測のための設定

---

CAS No、物質名、描画あるいは SMILES や SDF 等の様々な形式により予測を行いたい物質を入力した後、使用したい Profiler を選択し、実行するのみである。なお、他のプログラムのように混合物や塩、分子の中性化の処理を行うことなく、Profiler を適用することができる。

### 2.1.10. 出力される情報等について

---

OECD Toolbox の Profiler のみの使用の場合、“Data Matrix”としてのみ情報出力が可能である。“Report”の画面上で“Data Matrix”を選択し、表示される出力可能な項目から必要な項目を選択することで情報を出力できる。

出力可能な項目は下記の通りである；

**Substance identity**

Structure

CAS number

Chemical name

Other identifier

SMILES

**Parameters** (入力物質に対して Toolbox 上で計算させておくと、出力できる)

2D (計算により算出できる 2D パラメータ)

3D (計算により算出できる 3D パラメータ)

**Profilers** (入力物質に対して適用した Profiler の結果)

情報入力した物質にヒットがない場合は”no alert found”と表示され、ヒットした場合は、Profiler の詳細な名称のみが表示される。

DNA alerts for AMES by OASIS の例

Radical

>> Radical mechanism via ROS formation (indirect)

>> Conjugated Nitroalkenes and Five-Membered Aromatic Nitroheterocyclics

**Measured and predicted data**

(OECD Toolbox 内に収載されたデータベースにおける入力物質の既知見の検索を実行し、既知見がある場合、得られた結果を出力できる。)

## 2.2. VEGA

### 2.2.1. VEGA の概要

VEGA は欧州で開発された、Java ベースのシステムで、VEGA HUB<sup>2</sup>と呼ばれるに登録（無償）を行うことで、ダウンロードできる。VEGA は、EFSA CEF Panel (2017) における食品接触材料の評価における使用実績があるとともに、非試験法に基づく変異原性の証拠の重み付けによる評価の事例に紹介されている（EFSA Scientific Committee, Hardy A *et al.*, 2017）。VEGA の最新バージョン 1.1.4（2018 年 12 月時点）には、表 3.5-1 に示すヒト健康影響に関わる毒性エンドポイントのモデルが搭載されている。また、ヒト健康影響以外にも、物理化学的性状、環境中運命及び生態影響に関わるエンドポイントのモデルも搭載されている。

VEGA の特徴を以下に示す。

- VEGA は、異なるデータセット及び異なるモデル開発者による複数のモデルが搭載されており、その出力結果を同一の表示方法で出力する。
- モデル構築に利用されたトレーニングデータセットがすべて SDF 形式で公開されており、モデルの透明性が高い。
- EFSA が近年公開した「OpenFoodTox (<https://dwh.efsa.europa.eu/bi/asp/Main.aspx>)」を用いたモデル構築が進められている（Benfenati E *et al.*, 2017）。

表3.5-1 VEGAで予測可能なヒト健康影響に関わる毒性エンドポイント

毒性エンドポイント
Mutagenicity (Ames test)
Carcinogenicity
Developmental toxicity
Developmental/Reproductive toxicity
Estrogen Receptor Relative Binding Affinity
Estrogen Receptor mediated effect
Skin sensitization
Hepatotoxicity

最新の VEGA バージョン 1.1.4（2017 年 12 月時点）には、遺伝毒性に関わるエンド

<sup>2</sup> <https://www.vegahub.eu/>

ポイントとして「Mutagenicity (Ames test) model」があり、以下に示す5つのモデルがある。なお、CONSENSUS model は他の4種のモデルの結果に基づき予測を行うモデルである。

- CAESAR
- SarPy/IRFMN
- ISS
- KNN/Read-Across
- CONSENSUS model

### 2.2.2. トレーニングデータセットについて

各モデル構築に用いられたデータセットは、VEGA のツール内からダウンロードできる。ダウンロードしたデータセットの解析により得られた各モデルのデータセット数を表 3.5-2 に示す。なお、CONSENSUS モデルは他の4種のモデルの結果に基づき予測を行うため、トレーニングデータセットはない。

表 3.5-2 VEGA に搭載されたモデルに使用されたトレーニングデータセット  
(VEGA, 2017a~e)

モデル名	情報源	データ数 <sup>#</sup>
CAESAR v.2.1.13	Kazius-Bursi のデータベース (Kazius J. <i>et al.</i> , 2005)	3,367物質 陽性1,883、陰性1,484
SarPy/IRFMN v.1.0.7	CAESAR と同じ	CASESAR モデルと同じ
ISS v.1.0.2	記載なし	670 物質 陽性 331、陰性 339
KNN/Read-Across v.1.0.0	Hansen データベース (Hansen <i>et al.</i> , 2009) 日本の厚生労働省の Ames (Q)SAR プロジェクト*	5,770 物質 陽性 3,254 物質、陰性 2,516

# : VEGAからダウンロードできるデータセットの解析に基づく

\* : VEGA (2017d) にはこれ以上の記載なし

### 2.2.3. 予測エンドポイント

5つのいずれのモデルも、*S. typhimurium* (Ames 試験) における変異原性が予測エンドポイントとなっている (VEGA, 2017a~e)。

#### 2.2.4. アルゴリズムについて

VEGA に搭載されている変異原性に関する 5 モデルのアルゴリズムの概要を表 3.5-3 に示す。

表 3.5-3 VEGA の変異原性に関する 5 モデルのアルゴリズムの概要

モデル名	アルゴリズム	文献
CAESAR v.2.1.13	SVM モデルと警告構造の組合せ	VEGA (2017a)
SarPy/IRFMN v.1.0.7	Sarpy により見出された部分構造に基づくルールベース	VEGA (2017b)
ISS v.1.0.2	Benigni/Bossa ルールに基づくルールベース	VEGA (2017c)
KNN/Read-Across v.1.0.0	istKNN を用いた read-across	VEGA (2017d)
CONSENSUS model v.1.0.2	CAESAR、SarPy/IRFMN、ISS 及び KNN/read across の予測結果からのコンセンサス	VEGA (2017e)

##### (1)CAESAR

CAESAR モデルは、もともと欧州の CAESAR プロジェクトで開発されたモデル (<http://www.caesar-project.eu/software/>) を拡張したモデルである。CAESAR は統計ベースのモデルで、サポートベクターマシン (SVM : Support Vector Machine) により構築された分類モデル A 及び警告構造により偽陰性を取り除くためのモデル B で構成されている (VEGA, 2017a)。

[モデル A]

SVM による分類モデルでは、*in-house* モジュールで計算された、部分構造を中心とした 25 種の記述子が用いられている (VEGA, 2017a)。

[モデル B]

モデル B で使用されている警告構造は、Toxtree のモジュールとして利用されていた Benigni/Bossa の変異原性と発がん性のルールベース (Benigni R. *et al.*, 2008) によるものである。モデル B には、2 タイプの警告構造で構成されており、一つ目は変異原性に関連した 12 の警告構造である。

これらの警告構造の一つでもヒットした場合には、「変異原性あり (Mutagen)」と判定される。12 のいずれの警告構造もない場合のみ、「変異原性が疑われる物質 (Suspected Mutagen)」を判定する 4 つの警告構造の有無を確認する (Ferrari T. and Gini G., 2010)。4 つの警告構造は、トレーニングデータセット中の偽陽性率 (False positive rate) が中程度であったことを示しているという。

## (2)SarPy/IRFMN モデル

Sarpy<sup>3</sup>と呼ばれる分類モデルを構築するためのツールを用いて構築された。Sarpy では、トレーニングデータセット中の化学構造をフラグメントに分解し、予測対象の特性に関連するフラグメントを特定する。特性の種類 (活性・不活性) のフラグメントが特定することで、予想を行うためのフラグメントを特定する。

現在は、変異原性に関する 112 の部分構造 (警告構造) と、非変異原性に関する 93 の部分構造が搭載されている。これらの部分構造は SarPy/IRFMN モデルのガイドにすべて掲載されている (VEGA, 2017b)。

ひとつでも変異原性に関するルールがヒットすれば「Mutagen」、非変異原性に関するルールのみが一つ以上ヒットすれば「non-mutagen」と予測される。また、いずれのルールもヒットしなかった場合には、「possible non-mutagen」と予測される(VEGA, 2017b)。

## (3)ISS モデル

Toxtree (v.2.6) に適用された Benigni/Bossa が見出したルールのセットとして構築されている(VEGA, 2017c)。

ひとつでもルールがヒットすれば「Mutagen」、ヒットしなければ「non-mutagen」と予測される (VEGA, 2017c)。

## (4)KNN/Read-Across モデル

モデル内に搭載された 5,770 物質に基づく read-across により予測を行う。Read-across には istKNN<sup>4</sup>を用いており、物質のフィンガープリント、原子数、環数、ヘテロ

---

<sup>3</sup> <https://www.vegahub.eu/portfolio-item/sarpy/>

<sup>4</sup> <http://chm.kode-solutions.net>

原子数、ハロゲン数、特定の部分構造等に基づく類似性指標を用いた物質選択を実施している。類似性指標は0~1である。この類似性指標を用いて、5,770物質のデータセットからもっとも類似している4物質を選択し、予測を行う。類似性指標が0.7未満の類似物質は無視される。類似性指標が0.7以上の物質がない場合、予測は実行されない。予測は、類似性指標による重みを考慮し、選択した物質の中で最も代表的な結果に基づいて行われる (VEGA, 2017d)。

### (5) CONSENSUS model モデル

CAESAR、SarPy/IRFMN、ISS 及び KNN/read across の4つのモデルの予測結果に基づき予測を行う。CONSENSUS model では、各モデルの予測結果に、表 3.5-4 に示す各モデルの適用範囲評価の結果への重み付けによるスコアを算出し予測を行う。適用性評価については、次項「3.5.5 適用範囲について」及び「3.5.8 出力される情報等について」を参照されたい。算出されたスコアを使用したモデルの数により0-1に正規化し、スコアが最も高い予測クラスを最終的なコンセンサス予測として用いる。なお、入力物質に実験値があった場合には、実験値のみが考慮される。

このアプローチを用いることで、最終予測のスコアはコンセンサス評価による信頼性の指標として用いることができる、とされている。

表 3.5-4 CONSENSUS model における各モデルの適用範囲評価の結果への重み付け

<i>AD Assessment</i>	<i>Value / Weight</i>
Experimental value	1.0
High reliability	0.9
Moderate reliability	0.6
Low reliability	0.2

## 2.2.5. 適用範囲について

モデル毎にトレーニングデータセットが異なるため、適用範囲は異なるが、VEGAにおける適用範囲の決定方法は、VEGAに搭載されているすべてのモデルで共通である。

VEGAに搭載されたモデルの適用範囲は、「Global Applicability Domain Index (ADI)」と呼ばれる0~1の値により定量的な情報が得られる(VEGA, 2017a~d)。ADIによる適用範囲の判定基準を表3.5-5に示す。なお、CONSENSUS modelでは、ADIは算出されない(3.5.4-(1)参照)。

表 3.5-5 Applicability Domain Index (ADI) に基づく適用範囲の判定  
(VEGA, 2017a~d)

適用範囲の判定	CAESAR	<ul style="list-style-type: none"> <li>• SarPy/IRFMN</li> <li>• ISS</li> <li>• KNN/read across</li> </ul>
予測した物質はモデルの適用範囲内にある	$1 \geq \text{index} \geq 0.9$	$1 \geq \text{index} \geq 0.9$
予測した物質は、モデルの適用範囲外にある可能性がある	$0.9 > \text{index} \geq 0.7$	$0.9 > \text{index} \geq 0.65$
予測した物質は、モデルの適用範囲外にある	$\text{Index} < 0.7$	$\text{index} < 0.65$

ADIは、表3.5-6に示すインデックスから計算されている。ADIの主要部分はモデルのトレーニングデータセット及びテストセット中の物質と入力構造との類似性に関するものである。類似性では、分子フィンガープリントや構造的要素(原子、環状構造や関係するフラグメントの数)が考慮されている。

表 3.5-6 VEGA において算出される Applicability domain index (ADI) を構成するインデックス

ADI の種類	概要	定義	CAESAR	<ul style="list-style-type: none"> <li>• SarPy/IRFMN</li> <li>• ISS</li> <li>• KNN/read across</li> </ul>
Similar molecules with known experimental value (既知の実験値をもつ類似の分子)	トレーニングデータセット内の最も類似した 3 物質とどの程度類似しているか、に関するインデックス	トレーニングデータセット内に既知の実験値をもつ非常に類似した物質がある	$1 \geq \text{index} > 0.85$	$1 \geq \text{index} > 0.8$
		トレーニングデータセット内に既知の実験値をもつ中程度に類似した物質がある	$0.85 \geq \text{index} > 0.7$	$0.8 \geq \text{index} > 0.6$
		トレーニングデータセット内に既知の実験値をもつ類似した物質がない	$\text{Index} \leq 0.7$	$\text{index} \leq 0.6$
Accuracy of prediction for similar molecules (類似の分子における予測の合致度)	トレーニングセット内で最も類似した物質の予測における分類の合致度 (accuracy) に関するインデックス。1 に近いほど、信頼できる予測を与えるモデルスペースの範囲に予想した物質が含まれることを示す。	トレーニングデータセット内の類似物質に対する合致度が良い	$1 \geq \text{index} > 0.9$	
		トレーニングデータセット内の類似物質に対する合致度は最適化されていない	$0.9 \geq \text{index} > 0.5$	
		トレーニングデータセット内の類似物質に対する合致度が妥当ではない	$\text{Index} \leq 0.5$	
Concordance for similar molecules (類似物質における一致性)	3 つの最も類似した物質の予測値と実験値の違いを考慮したインデックス。値が 0 に近い場合、予測が信頼できない可能性があることを示す。	トレーニングデータセット内の類似の物質が予測値と合致する実験値をもつ	$1 \geq \text{index} > 0.9$	
		トレーニングデータセット内のいくつかの類似物質では、予測値が実験値と合致しない	$0.9 \geq \text{index} > 0.5$	
		トレーニングデータセット内の (全ての) 類似物質の予測値と実験値が合致しない	$\text{index} \leq 0.5$	

ADIの種類	概要	定義	CAESAR	<ul style="list-style-type: none"> <li>• SarPy/IRFMN</li> <li>• ISS</li> <li>• KNN/read across</li> </ul>
Atom Centered Fragments similarity check. (フラグメントの類似性確認)	トレーニングデータセットに含まれない、あるいは稀なフラグメントを考慮したインデックス	入力物質の全てのフラグメントがトレーニングデータセットに含まれている	index = 1	
		入力物質のいくつかのフラグメントがトレーニングデータセットに含まれていないあるいは稀なフラグメントである	1 > index >= 0.7	
		入力物質の主なフラグメントがトレーニングデータセットに含まれていないあるいは稀なフラグメントである	index < 0.7	
Model descriptors range check. (モデルの記述子範囲の確認)	入力物質の記述子がトレーニング及びテストセットの記述子の範囲内にあるかどうかを確認するインデックス	入力物質の記述子はトレーニングデータセットの記述子の範囲内にある	index = True	—
		入力物質の記述子はトレーニングデータセットの記述子の範囲外にある	index = False	

## 2.2.6. 適合度、頑健性、予測性等について

表 3.5-7 に VEGA (2017a~d) に記載されていた、CAESAR、SarPy/IRFMN、ISS 及び KNN/read across の適合度及び予測性を示す。

表 3.5-7 VEGA 搭載モデルの適合度及び予測性 (VEGA, 2017a~d)

モデル名	適合度				予測性			
	物質数	一致率	特異度	感度	物質数	一致率	特異度	感度
CASESAR#	3,252	92%	86%	97%	798	83%	74%	90%
SarPy/IRFMN	3,367	82%	77%	86%	837	81%	76%	86%
ISS	670	79%	68%	89%	—	—	—	—
KNN/read across <sup>\$</sup>	5,764	80%	76%	83%	—	—	—	—

\$ : 予測できなかった物質=6 物質

## 2.2.7. 予測に必要な情報及び予測のための設定

予測に必要な情報及び予測のための設定は、VEGA に搭載されているすべてのモデルに共通である。

VEGA では、SMILES の直接入力、SMILES の入った smi または txt ファイル、SDF による入力が可能である。

予測対象の物質を入力した後、予測に使用したいモデルのチェックボックスをクリックしてモデルを選択する。1 度に複数のモデルの選択が可能である。

さらに、希望する出力形式 (Excel または PDF) のチェックボックスをクリックして選択し、出力ファイルの保存先を指定する。1 度に複数の出力形式を選択することが可能である。

## 2.2.8. 出力される情報等について

Excel 及び PDF ファイルによる出力が可能である。

VEGA から出力される情報項目は下記の通りである。

### **Prediction Summary**

- ・ 入力物質の構造
- ・ 予測結果及び信頼性評価結果のグラフ表示

グラフ表示の例：

#### ■ 予測結果



Compound is classified as non-mutagen (non-mutagen と予測される場合)



Compound is classified as suspect mutagen (suspected mutagen と予測される場合)



Compound is classified as mutagen (mutagen と予測される場合)

#### ■ 信頼性評価結果<sup>#</sup>



Prediction has high reliability (compound into the AD)  
(予測の信頼性が高い (入力物質が適用範囲内))



Prediction has moderate reliability (compound could be out of the AD)  
(予測の信頼性が中程度 (入力物質が適用範囲外にある可能性がある))



Prediction has low reliability (compound out of the AD)  
(予測の信頼性が低い場合 (入力物質が適用範囲外にある))

- ・ 入力時に使用した物質 ID
- ・ SMILES
- ・ 予測結果
- ・ 実験値 (Mutagenic/non-mutagenic : トレーニングデータセットにある場合) <sup>#</sup>
- ・ 検出された警告構造<sup>#</sup>
- ・ 信頼性<sup>#</sup>
- ・ 使用したモデル数<sup>\$</sup>
- ・ 予測スコア<sup>\$</sup>

- ・各モデルからの結果\$
- ・入力物質の VEGA 内処理において問題が発生した場合にはその説明

**Applicability Domain: Similar Compounds, with Predicted and Experimental Values#**

トレーニングデータセット内の類似物質の

- ・ CAS
- ・ データセット内の ID
- ・ SMILES
- ・ Similarity
- ・ 実験値 (Mutagenic/non-mutagenic)
- ・ モデルで予測した結果 (Mutagenic/non-mutagenic)
- ・ 検出された警告構造

**Applicability Domain: Measured Applicability Domain Score#**

- ・ Global ADI
- ・ 表 3.5-6 に示したインデックス

**Reasoning : Relevant Chemical Fragments and Moieties**

- ・ Reasoning on fragments/structural alerts:
  - 検出された警告構造
  - トレーニングデータセット内で同一の警告構造をもつ最も類似した物質

# : CONSENSUS model では表示されない

\$ : CONSENSUS model のみで表示される

## 2.3. T.E.S.T.

---

### 2.3.1. T.E.S.T.の特徴

---

“Toxicity Estimation Software Tool (T.E.S.T.)”は、米国環境保護庁（US-EPA）が提供する無償ソフトウェアで、<https://www.epa.gov/chemical-research/toxicity-estimation-software-tool-test> からダウンロードすることができる。T.E.S.T.は、EFSA CEF Panel (2017) における食品接触材料の評価における使用実績があるとともに、非試験法に基づく変異原性の証拠の重み付けによる評価の事例に紹介されている（EFSA Scientific Committee, Hardy A *et al.*, 2017）。

T.E.S.T.はヒト健康影響については、下記のエンドポイントを予測できる

- Oral rat 50 percent lethal dose (LD50)
- Developmental Toxicity
- Ames Mutagenicity

T.E.S.T.では「予測される毒性は、異なる方法であっても類似している」との仮定のもと、異なるアルゴリズムによる予測結果を提供することで、予測される毒性がより信頼できるものになると考えられて構築されている。そのため、T.E.S.T.には、同一のデータセットを用いて以下の6種のアルゴリズムで構築された複数の予測モデルが含まれている（アルゴリズムの詳細は後述）。

- Hierarchical method
- FDA method
- Single-model method
- Group contribution method
- Nearest neighbor method
- Consensus method
- Mode of action method

なお、本調査で対象とする遺伝毒性評価に関連するエンドポイントとしては、「Mutagenicity」があり、上記手法のうち、Hierarchical、FDA、Nearest neighbor 及び Consensus を用いた4種のアルゴリズムによるモデルが T.E.S.T.に搭載されている。

### 2.3.2. モデル構築に用いたデータセットについて

---

「Mutagenicity」のモデル構築に使用されたデータセットは、いわゆる Hansen データセット (Hansen K. *et al.*, 2009) であり、表 3.6-1 に示す 6,512 物質 (陽性 : 3,503 物質、陰性 : 3009 物質) から、塩、混合物、CAS 番号をもたない物質などを除いた 5,743 物質が使用されている (US EPA, 2016)。

表 3.6-1 モデル構築に用いたデータセット (US EPA., 2018a)

情報源	物質数
CCRIS (2009 時点)	2,539
Kazius J. <i>et al.</i> , 2005	2,224
Helma C. <i>et al.</i> , 2004	138
Feng J <i>et al.</i> , 2003	391
Judsom PN <i>et al.</i> , 2005	1,194
GENETOX (2009 時点)	26
合計	6,512 ここから塩、混合物等を除いた 5,743 をモデル構築に使用

なお、「Mutagenicity」のモデル構築に用いたデータセットは下記 URL からダウンロードできる。

<http://doc.ml.tu-berlin.de/toxbenchmark/>

### 2.3.3. 予測エンドポイントについて

---

前述の情報源から収集した *S. typhimurium* の Ames 試験のうち、S9 の有無に関わらず、5 菌株の 1 菌株でも有意な revertant colony growth をした物質を陽性として、予測を行う。

### 2.3.4. アルゴリズムについて

---

遺伝毒性に関連するモデルを含む T.E.S.T. に搭載されているモデルは全て、化学構造に基づく 2 次元の物理的特性による分子記述子を用いている。各記述子はオープンソースの Java を用いた "Chemistry Development Kit" を用いて計算されており、各分子記述

子の詳細は、US EPA が公開している「Molecular Descriptors Guide. *Description of Molecular Descriptors Appearing in the Toxicity Estimation Software Tool. Version 1.0.2* (US EPA, 2008)」に掲載されている。

「Mutagenicity」に使用されている、Hierarchical、FDA、Nearest neighbor 及び Consensus の4種のアロリズムの概要を表 3.6-1 に示す。

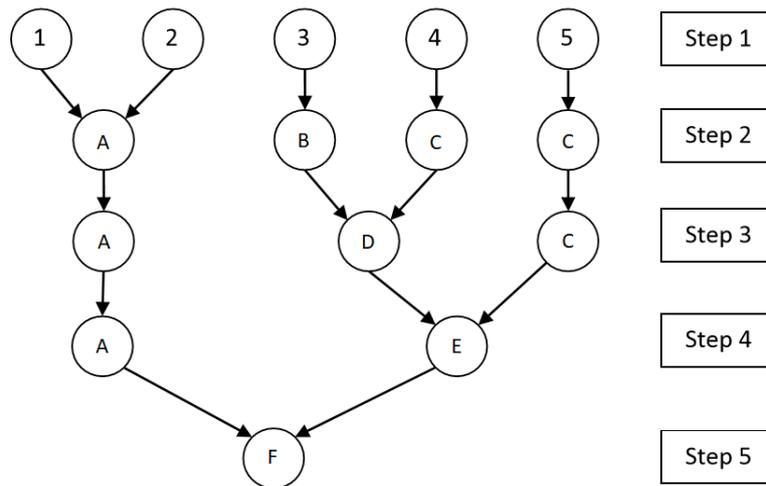
表 3.6-1 T.E.S.T.の「Mutagenicity」に使用されているアロリズムの概要

アロリズム	概要
Hierarchical method	Ward 法によるクラスタリングにより作成した物質グループ毎に遺伝的アロリズムによるモデル構築を行い、入力構造と類似した物質を含む物質グループから構築されたモデルから得られた予測結果を平均化する。
FDA method	トレーニングデータセットの中から予測したい物質と類似の物質を集め、遺伝的アロリズムを用いた重回帰分析によりモデルを構築し、予測する。
Nearest neighbor method	トレーニングデータセットの中から入力構造にもっとも類似した3つの構造の平均に基づく予測する。
Consensus method	上記の手法で得られた値を平均化する。

### (1) Hierarchical method

Hierarchical method では、Ward 法と呼ばれる階層的クラスタリング手法により、分子記述子を用いて、トレーニングデータセットから類似の性質を有する物質クラスターを作成している。Hierarchical method で用いられている階層的クラスタリング

(Hierarchical clustering) のイメージ図を以下に示す。例えば、トレーニングデータセットが5物質だった場合には、最初の段階 (Step-1) では、各クラスターには1物質ずつが含まれる。ここで、個別のクラスターの分散の和が最小になるように、全クラスターのうち2つのクラスターが1つのクラスターになる処理を行う (Step-2)。最終的に全物質 (ここでは5物質) が1つのクラスターに包含される (Step-5) までステップを繰り返す。



こうしたクラスタリングの後、クラスター毎に、各クラスターに含まれる物質を用いて、遺伝的アルゴリズム（Weka statistical package, ver. 3.5.1）によるモデル構築を行っている。なお、各モデル構築に利用できる記述子の数は  $n_k/5$  が設定されている

（ $n_k$  :  $k$  番目のクラスターに含まれる物質数）。二値モデル（バイナリモデル）である Ames Mutagenicity のモデルの場合、クラスター毎に構築されたモデルのうち、Leave-one-out による一致率が 0.8 以上、感度及び特異度がそれぞれ 0.5 以上のモデルのみが実際の予測を行う際に採用されている。

入力物質の予測を行う際には、上記のクライテリアを満たす複数のモデルによる予測を行い、二値モデルである Ames Mutagenicity の場合には、その結果を平均して、最終的な予測結果を得る。複数のモデルから予測を行うため、より信頼性のある予測を行うことができる、とされている。

## (2)FDA method

FDA method は、Contrera *et al.*(2003)の方法に基づいている。FDA method では、まず、トレーニングデータセットの中から入力構造に類似した物質グループをコサイン類似度係数に基づき 30 物質抽出する。その後、抽出した物質グループから、遺伝的アルゴリズムを用いた重回帰分析によるモデル構築を行い、入力物質についての予測を行う。この手法は、プログラムを実行する際に、入力物質特異的なモデルを構築するために他の方法を用いるより時間はかかるものの（数分程度）、入力物質特異的なモデルを構築するとともに、モデル構築に使用した物質に入力物質が含まれないために外部予測になるという利点がある。なお、予測には、 $q^2_{LOO}$  が 0.5 以上のモデルを使用することとしており、このクライテリアが満たせないあるいは、入力物質が適用範囲から外れる場合には、物質グループを最大 75 にまで拡大してモデルを構築する。物質を 75 に増やしても適切なモデルが得られない場合、予測は行われない。

### **(3)Nearest neighbor method**

トレーニングデータセットの物質から、コサイン類似度係数が 0.5 以上の、入力構造にもっとも類似した 3 物質のデータを平均化して行う予測である。

### **(4)Consensus method**

エンドポイントが Ames Mutagenicity の場合、Hierarchical method、FDA method あるいは Nearest Neighbor method から得られた予測結果を単純に平均化して予測を行う（個々のモデルの適用範囲は考慮されている）。ただし、予測が行えた方法が一つしかない場合、Consensus method では、その値は信頼できないとして採用しない。

### **(5)判定**

Ames Mutagenicity においては、トレーニングデータセット内で陰性の物質を 0、陽性の物質を 1 としてモデル構築を行っているため、予測値 $<0.5$  であれば陰性、予測値 $>0.5$  であれば陽性と判定することになる。

## **2.3.5. 適用範囲について**

---

### **(1)Hierarchical method**

記述子の適用範囲（model ellipsoid constraint）、入力物質のクラスター重心までの距離がクラスター内の物質のクラスター重心までの距離より短いこと（Rmax constraint）及び入力構造の構造フラグメントが一つでもトレーニングデータセットの物質のフラグメントに含まれているか（Fragment constraint）の 3 点が考慮されている。

なお、記述子の適用範囲は、入力物質のリバレッジ（leverage）がモデルに使用された全物質の最大リバレッジ値より小さい必要がある。

### **(2)FDA method**

Hierarchical method と同じ方法により、記述子の適用範囲及び構造フラグメントを定義し、適用範囲としている。

### 2.3.6. 適合度、頑健性、予測性等について

データセットをトレーニングデータセット（モデル構築用）とテストセット（外部検証用）に分けて実施した、テストセットによる検証結果が、T.E.S.T.のユーザーガイド（US EPA, 2016）に掲載されている。テストセットを用いた外部検証の結果を以下に示す。また、入力物質の予測に用いたモデルの適合度、予測性の結果は出力内容に含まれている。なお、Consensus モデルが最も良好な結果を与えている（US EPA, 2016）。

Method	Concordance	Sensitivity	Specificity	Coverage
Hierarchical	0.763	0.776	0.746	0.956
FDA	0.775	0.766	0.787	0.961
Nearest neighbor	0.770	0.783	0.752	0.990
Consensus	0.790	0.789	0.791	0.995

（US EPA (2016) の Table 4.7.1 Prediction results for the Ames mutagenicity test set の結果から抜粋）

### 2.3.7. 予測を行う際に入力可能な情報及び予測のための設定

描画、SMILES 表記、MDL mol ファイル、SDF 等による入力が可能である。予測対象物質の構造を入力した後、必要に応じて「Molecular ID」に必要な情報を入力する。さらに、「Endpoint」のリストから予測したいエンドポイントを選択し、「Method」から予測を行いたい方法（Consensus、Hierarchical clustering、FDA あるいは Nearest Neighbor）をリストから選択し、「Calculate」をクリックして、予測を実行するのみである。必要に応じて、「Option」から予測結果を保存する場所の指定ができる。

なお、「Option」に「Relax fragment constraint（トレーニングデータセットに含まれない構造フラグメントがある場合、予測を行えないが、その制限を任意に解除する機能）」を選択できるが、Ames Mutagenicity では予測性が向上しないとして、選択できない設定となっている（US EPA, 2016）。

### 2.3.8. 出力される情報等について

T.E.S.T.から出力される情報項目は下記の通りである。

#### **Predicted Results**

Mutagenicity value

- Experimental value (データセット内に既知見がある場合のみ)
- Predicted value

Mutagenicity result (上記の定量値に基づく陽性・陰性分類)

- Experimental results
- Predicted result (データセット内に既知見がある場合のみ)

#### **Individual Predictions**

各 Method による Predicted values

入力物質の記述子情報を閲覧するためのリンク

#### **Predictions for the test chemical and for the most similar chemicals in the external test set**

外部検証に基づく一致率、感度、特異度

外部データセット中の類似物質の構造、類似度、各 Experimental value、Predicted value

#### **Predictions for the test chemical and for the most similar chemicals in the training set**

トレーニングデータセットにおける一致率、感度、特異度

トレーニングデータセットにおける類似物質の構造、類似度、各 Experimental value、Predicted value

※Nearest Neighbor method の場合のみ、上記に加え、トレーニングデータセットから抽出された Nearest Neighbor の CAS、構造、Experimental value、類似度が提供される。

### 3. 参考文献

---

- Benigni R., Bossa C., Jeliaskova N.G., Netzeva T.I., Worth A.P. (2008) The Benigni/Bossa rulebase for mutagenicity and carcinogenicity - a module of toxtree. Technical Report EUR 23241 EN, European Commission - Joint Research Centre 2008.
- Benfenati E, Como F, Marzo M, Gadaleta D, Toropov A and Toropova A, 2017. Developing innovative in silico models with EFSA's OpenFoodTox database. EFSA supporting publication 2017:EN-1206. 19 pp.
- Chemical Carcinogenesis Research Information System (CCRIS)  
<http://www.cancerinformatics.org.uk/matrix/CCRIS.htm>
- EFSA ANS Panel (2015) Scientific Opinion on the re-evaluation of polyoxyethylene sorbitan monolaurate (E 432), polyoxyethylene sorbitan monooleate (E 433), polyoxyethylene sorbitan monopalmitate (E 434), polyoxyethylene sorbitan monostearate (E 435) and polyoxyethylene sorbitan tristearate (E 436) as food additives. EFSA Journal; 13(7):4152. 74 pp.
- EFSA CEF Panel (2011) Scientific Opinion on the safety evaluation of the substance, phosphorous acid, mixed 2,4-bis(1,1-dimethylpropyl)phenyl and 4-(1,1-dimethylpropyl)phenyl triesters, CAS No. 939402-02-5, for use in food contact materials for use in food contact materials. EFSA Journal; 9(7):2305. 14 pp.
- EFSA CEF Panel (2017) Safety assessment of the substance 1,2,3,4-tetrahydronaphthalene-2,6-dicarboxylic acid, dimethyl ester for use in food contact materials. EFSA Journal 2017;15(5):4840, 7 pp.
- EFSA Scientific Committee, Hardy A *et al.* (2017) Scientific Opinion on the guidance on the use of the weight of evidence approach in scientific assessments. EFSA Journal;15(8):4971, 69 pp.
- Feng J, Lurati L, Ouyang H, Robinson T, Wang Y, Yuan S, Young SS. (2003) Predictive Toxicology: Benchmarking Molecular Descriptors and Statistical Methods. J. Chem. Inf. Comput. Sci., 43, 1463-1470.
- Ferrari T., Gini G. (2010) An open source multistep model to predict mutagenicity from statistical analysis and relevant structural alerts. Chemistry Central Journal, 4 (Suppl 1):S2.

- Genetic Toxicity, Reproductive and Development Toxicity, and Carcinogenicity Database (GENETOX). 2018, [http://www.fda.gov/Cder/Offices/OPS\\_IO/genrepcar.htm](http://www.fda.gov/Cder/Offices/OPS_IO/genrepcar.htm)
- Hansen K, Mika S, Schroeter T, Sutter A, Ter Laak A, Steger Hartmann T, Heinrich N and Muller KR. (2009) Benchmark data set for in silico prediction of Ames mutagenicity. *Journal of Chemical Information and Modeling*, 49, 2077-2081.
- Helma C, Cramer T, Kramer S, De Raedt L. (2004) Data Mining and Machine Learning Techniques for the Identification of Mutagenicity Inducing Substructures and Structure Activity Relationships of Noncongeneric Compounds. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.*, 44, 1402-1411.
- Kazius J, McGuire R, Bursi R. (2005) Derivation and Validation of Toxicophores for Mutagenicity Prediction. *J. Med. Chem.* 2005, 48, 312-320.
- Mekenyan, O., Dimitrov, S., Serafimova, R., Thompson, E., Kotov, S., Dimitrova, N., and Walker, J. (2004) Identification of the structural requirements for mutagenicity by incorporating molecular flexibility and metabolic activation of chemicals I: TA100. *Chem. Res. Toxicol.* 17, 753-766.
- OECD (2007) GUIDANCE DOCUMENT ON THE VALIDATION OF (QUANTITATIVE)STRUCTURE-ACTIVITY RELATIONSHIPS [(Q)SAR] MODELS. Series on Testing and Assessment No. 69.
- OECD (2017a) QSAR Toolbox Document. DNA binding by OASIS. (OECD Toolbox 内に収載)
- OECD (2017b) QSAR Toolbox Document. DNA binding by OECD. (OECD Toolbox 内に収載)
- OECD (2017c) QSAR Toolbox Document. DNA alerts for AMES by OASIS. (OECD Toolbox 内に収載)
- OECD (2017d) QSAR Toolbox Document. *in vitro* mutagenicity (Ames test) alerts by ISS. (OECD Toolbox 内に収載)
- OECD (2017e) QSAR Toolbox Document. DNA alerts for CA and MNT by OASIS (OECD Toolbox 内に収載)
- OECD (2017f) QSAR Toolbox Document. Protein binding alerts for Chromosomal aberration by OASIS. (OECD Toolbox 内に収載)

- OECD (2017g) QSAR Toolbox Document. *in vivo* mutagenicity (Micronucleus) alerts by ISS.  
(OECD Toolbox 内に収載)
- OECD (2017h) QSAR Toolbox Document. Carcinogenicity (genotox and nongenotox) alerts by  
ISS. (OECD Toolbox 内に収載)
- Serafimova, R., Todorov, M., Pavlov, T., Kotov, S., Jacob, E., Aptula, A., and Mekenyan, O.  
(2007) Identification of the structural requirements for mutagenicity, by incorporating  
molecular flexibility and metabolic activation of chemicals. II. General Ames  
mutagenicity model. Chem. Res. Toxicol. 20, 662-676.
- US EPA (2008) Molecular Descriptors Guide. Description of the Molecular Descriptors  
Appearing in the Toxicity Estimation Software Tool. Version 1.0.2  
[<https://www.epa.gov/sites/production/files/2015-05/documents/moleculardescriptorsguide-v102.pdf>]
- US EPA (2016) User's Guide for T.E.S.T. (Toxicity Estimation Software Tool): A program to  
Estimate Toxicity from Molecular Structure. [<https://www.epa.gov/chemical-research/users-guide-test-version-42-toxicity-estimation-software-tool-program-estimate>]
- US EPA (2018a) Benchmark Data Set for In Silico Prediction of Ames Mutagenicity  
[[http://doc.ml.tu-berlin.de/toxbenchmark/information\\_v2.html](http://doc.ml.tu-berlin.de/toxbenchmark/information_v2.html)]
- VEGA (2017a) Guide to Mutagenicity Classification Model version 2.1.13 (VEGA 内に収  
載)
- VEGA (2017b) Guide to Mutagenicity SarPy/IRFMN Model version 1.0.7 (VEGA 内に収  
載)
- VEGA (2017c) Guide to Mutagenicity ISS Model version 1.0.2 (VEGA 内に収載)
- VEGA (2017d) Guide to Mutagenicity Read-Across version 1.0.0 (VEGA 内に収載)
- VEGA (2017e) Guide to Mutagenicity Consensus version 1.0.2 (VEGA 内に収載)

## 4. 用語集

(アルファベット順)

用語	用語説明
Algorithm アルゴリズム	特定のタスクを実行するための一連の命令。一般に数学の方程式又はコンピューターコードの形をとる (NAFTA, 2012)。
Applicability Domain/ Domain of Applicability 適用範囲	<p>(Q)SARモデルの適用範囲は、ある信頼性を持ってモデルが予測を行うことができる応答と化学構造の空間/範囲 (space) である。</p> <p>信頼性のある予測を行うモデルにおける多次元空間/範囲 (space) における理論的な領域として考えられる。適用範囲に関する情報は、モデルの利用者が新たな物質についての予測について信頼できるか否かを判断する助けとなる。トレーニングセットにおける物質の性質及びモデル開発に用いた手法に領域は依存する。適用範囲を定義する方法の開発や評価はQSAR研究における重要な分野となっている (OECD, 2007)。</p> <p>(Q)SAR モデルの適用範囲とは、当該のモデルが定められた信頼性にもとづいて予測を行う化学構造と応答空間のことである。モデルが信頼性の高い予測を行う多次元空間中の理論的空間とも言える。トレーニングセットの化学物質の性質とモデルの作成方法に左右されるが、新規化学物質に関する予測の信頼性を判断する根拠ともなる (NAFTA, 2012)。</p>
Cross-validation 相互検証	QSAR の予測性能を評価するための統計的手法。トレーニングセットから当該の化学物質の異なる部分を排除し、残りの化学物質について QSAR を作り、その QSAR により、排除された化学物質の作用を予測する。この作業を何度も繰り返し、既知のデータと予測データとを比較することにより、多くの統計データが得られる (NAFTA, 2012)。

用語	用語説明
コサイン類似度係数	<p>コサイン類似度係数 <math>SC_{i,k}</math> は以下の式で表される値であり、<math>x_{ij}</math> は物質 <math>i</math> の <math>j</math> 番目に標準化された記述子（オリジナルのトレーニングデータセット内の全ての物質に対して標準化）の値であり、<math>x_{kj}</math> は物質 <math>k</math> の <math>j</math> 番目の記述子の値である。</p> $SC_{i,k} = \frac{\sum_{j=1}^{\#descriptors} x_{ij} x_{kj}}{\sqrt{\sum_{j=1}^{\#descriptors} x_{ij}^2 \cdot \sum_{j=1}^{\#descriptors} x_{kj}^2}}$
External validation 外部検証	<p>外部検証とは、トレーニングセットに含まれる物質とは異なるように選定され、トレーニングデータセットと同じ化学物質の範囲を代表しているテストセットを使った検証である。モデルの予測能を明らかにするためにテストセットの物質を適用する。理想的な検証過程では、外部検証の結果は内部検証により得られた結果の補足として利用される。しかし、実際には、外部検証を行う十分なデータはないかもしれない (OECD, 2007)。</p> <p>テストセットの対象となる化学構造がトレーニングセットの化学構造とは異なる検証作業。しかし、同一の化学的領域を代表していなければならない。トレーニングセットの化学物質をもとに作成された QSAR モデルがテストセットの化学物質に適用され、同モデルの予測性能が評価される (NAFTA, 2012)。</p>
Genetic algorithm 遺伝的アルゴリズム	<p>記述子の最適な組み合わせを選択し、特定の特性を記述する統計的手法。生物の繁殖における「適者生存の原理」をモデルとしている (NAFTA, 2012)。</p>
Internal validation 内部検証	<p>内部検証は、トレーニングセットの物質を適用したひとつあるいはそれ以上の統計的手法による検証の実施である。内部検証では、ひとつあるいはそれ以上の適合度、モデルパラメータの頑健性及び予測性の推定結果が得られる。</p>

用語	用語説明
	多くのQSAR実践者は、内部検証は不可欠であるが、統計的検証の側面からは十分ではなく、理想的には外部検証によって補完されるべきであると考えている (OECD, 2007)。
(Model) Performance: (モデルの) 性能	(Q)SARモデルの性能は、適合度、頑健性及び定義された適用範囲における予測能である。モデルの性能は統計的な検証技術を用いて証明される (OECD, 2007)。
(Molecular) Descriptor (分子) 記述子	分子記述子は、分子の特異的な性状を特徴づけ、QSARにおける独立変数として使用される分子の構造あるいは物理化学的性状、あるいは分子の一部である。 当該のエンドポイントと関連づけられる化学物質に特有の定量可能な物理・化学・構造的特性。記述子には3つのカテゴリ (疎水性記述子・立体記述子・電子記述子) がある。立体記述子は分子の大きさや形状に関するものである。電子記述子は分子間相互作用 (水素結合や双極子力等) と関連しており、原子電荷等の量子力学的・量子化学的記述子が含まれる。疎水性記述子 (Log P 等) は化学物質が親水性 (水性) と疎水性 (脂溶性) に分かれる傾向と関連している (NAFTA, 2012)。
Predictivity 予測性	モデルの予測性 (あるいは予測能/予測キャパシティ) は、モデルのトレーニングセットに含まれていない化学構造に対する信頼できる予測ができるかという尺度である 回帰モデルでは、予測性の尺度は決定係数である。分類モデルでは、予測性には陽性及び陰性予測性が含まれる。(Q)SARの実践者には、内部あるいは外部検証に基づく予測性の推定あるいは尺度かによって内部予測性と外部予測性を区別する者もいる。また、“内部予測性”に“内部性能 (internal performance)”という言葉を用い、“予測性”は“外部”によって定義されると考える者もいる (OECD, 2007)。  モデルのトレーニングセットに含まれていない化学構造について精度の高い予測を行う性能の指標 (NAFTA, 2012)。
Read-across	ある化学物質 (標的化学物質) のエンドポイントを予測する際、ひとつ又は複数の化学物質 (標準化学

用語	用語説明
リードアクロス	物質) のエンドポイント情報が利用され、ある点における「類似性」が確認される (構造的類似性又は作用機構・形態上の類似性によるもの)。「データブリッジ」とも呼ばれる。一般に、リードアクロス法は物理化学的特性・毒性・環境動態・生態毒性の予測に利用可能である。これらのエンドポイントについては定性又は定量化が行われる (NAFTA, 2012)。
Quantitative structure-activity relationship (QSAR) 定量的構造活性相関	QSARは、生物学的活性 (例 ; 毒性) と、活性予測に利用するひとつあるいはそれ以上の分子記述子間の定量的関係である (OECD, 2007)。  「エンドポイント」 (毒性等の生物活性) と「エンドポイント又は活性と関連するひとつ又は複数の記述子」との間の定量的相関関係 (NAFTA, 2012)。
Quantitative structure-property relationship (QSPR) 定量的構造物性相関	QSPRは、物理化学的性状あるいは環境に係るパラメータ (例 ; 分配係数) と、ひとつあるいはそれ以上の性質を予測するために使用される記述子間の定量的関係である (OECD, 2007)。
SAR	構造活性相関。分子 (基本) 構造と生物活性の有無との間の定性的関係 (結合等)、又は他の基礎構造によってもたらされる生物活性を調整する性能 (NAFTA, 2012)。
SMILES SMILES 記法	Simplified Molecular Input Line Entry System の略。分子の化学構造をコンピューターに適した 2 次元記述子で標準化したもの。SMILES の文字列はいくつかのルールにもとづいて表示される。すなわち、各非水素原子 (水素が含まれるのは特殊なケースのみ) はその記号で表示される。二重結合は「=」、三重結合は「#」、分枝はカッコ内に表示され、環は数字によって開閉される。たとえば、CCO はエタノールを意味し、c1ccccc1N はアニリンである (数字は環の始点と終点、小文字の「c」は芳香族炭素を意味する) (NAFTA, 2012)。
Structural alert 警告構造	警告構造は生物学的活性の存在と関係のある分子(サブ)ストラクチャーである (OECD, 2007)。

用語	用語説明
	特定の (主に有害な) 生物活性の存在と関連する分子 (サブ) ストラクチャー (NAFTA, 2012)。
Tanimoto coefficient (Tanimoto 係数)	最も広く使われている、化学物質の構造の類似性を表す指標。
Test set テストセット	QSAR の作成に利用されるトレーニングセットに含まれない化学物質のセット。QSAR の検証 (予測性能の評価) に利用される。「独立」又は「外部」テストセット、あるいは検証セットとも呼ばれる。(Q)SAR を検証する際、テストセットとトレーニングセットの適用範囲を統一し、十分な数の化学構造を網羅することが重要である(NAFTA, 2012)。
Training (data)set トレーニング (データ)セット	QSAR を導き出すための化学物質の(データ)セット。一般に、トレーニング(データ)セットのデータは、化学物質のマトリクス及び毒性試験で確認される特性や影響によって体系化される。均質なトレーニング(データ)セットとは、共通のクラスに属する化学物質、又は共通の化学官能性あるいは作用機構を有する化学物質のセットである。一方、不均質 (heterogenous) トレーニング(データ)セットとは、異なるクラスに属する化学物質、又は化学官能性あるいは作用機構を異にする化学物質のセットである (NAFTA, 2012)。
Validation 検証	(Q)SAR の信頼性と妥当性を評価する作業。(Q)SAR とそのモデルの検証に関する OECD ガイダンス (試験・評価に関する OECD シリーズ No.69) によると、「検証」とは、定義を目的として、特定の手法・方法・過程・評価の信頼性と妥当性を確立する作業を意味する(NAFTA, 2012)。

North American Free Trade Agreement (NAFTA) (2012) Technical Working Group on Pesticides (TWG). (Quantitative) Structure Activity Relationship [(Q)SAR] Guidance Document.

OECD (2007) GUIDANCE DOCUMENT ON THE VALIDATION OF (QUANTITATIVE)STRUCTURE-ACTIVITY RELATIONSHIPS [(Q)SAR] MODELS. Series on Testing and Assessment No. 69.

US EPA (2016) User's Guide for T.E.S.T. (Toxicity Estimation Software Tool): A program to Estimate Toxicity from Molecular Structure.

[\[https://www.epa.gov/chemical-research/users-guide-test-version-42-toxicity-estimation-software-tool-program-estimate\]](https://www.epa.gov/chemical-research/users-guide-test-version-42-toxicity-estimation-software-tool-program-estimate)