

令和2年度 食品健康影響評価技術研究 研究成果報告書（終了時）

研究課題名 (研究項目名)	二値反応の用量反応データを対象としたベンチマークドーズ計算ソフトウェアの開発研究（課題番号：1907）
主任研究者	研究者名：西浦 博 所属機関：国立大学法人 京都大学

研究期間及び研究目的等

1 研究期間

令和元年度～令和2年度（2年間）

2 研究目的

本研究の目的は、日本独自の二値データに対する BMD 計算ソフトウェアを実装し、行政機関における評価をはじめとして、同手法の実施が国内外においてより身近になるよう、グラフィカルユーザインターフェース（GUI）を備えた日本語版及び英語版ソフトをそれぞれ開発研究することである。開発したソフトウェアについては、多数の毒性試験データ等を用いて、その計算結果のバリデーション（妥当性評価）を実施するとともに既存の海外ソフトウェアとの性能比較を行うことで、そのパフォーマンスを担保、評価することとしてきた。

3 研究体制

研究項目名	個別課題名	研究担当者名(所属機関)
二値反応の用量反応データを対象としたベンチマークドーズ計算ソフトウェアの開発	1) ソフトウェア仕様の決定	西浦博（京都大学）
	2) 適合度の良いモデルだけに対する平均化機能をもつBMD計算GUIソフトウェアの実装	山口崇幸（滋賀大学）
	3) バグ（プログラミング上の誤り）のチェック・修正と実装関係者間でのデモンストレーションの実施	西浦博（京都大学） 山口崇幸（滋賀大学）
	4) 開発ソフトウェアの日本語版アップデート・英語環境の適応	西浦博（京都大学）
	5) GUIソフトウェアの実装とパフォーマンス評価	山口崇幸（滋賀大学）
	6) 実装関係者間でのデモンストレーションと既存ソフトウェアとの系統的比較検討の実施	西浦博（京都大学） 山口崇幸（滋賀大学）

4 倫理面への配慮について

本研究の実施については、研究の特性上、研究対象者に対する人権擁護上の配慮及び実験動物に対する動物愛護上の配慮を要することはなく、研究方法による研究対象者に対する不利益及び危険性の排除や説明と理解（インフォームド・コンセント）に関わる状況が生じることはない。

研究内容及び成果等

(1) 研究項目名：二値反応の用量反応データを対象としたベンチマークドーズ計算ソフトウェアの開発

1) 個別課題名：ソフトウェア仕様の決定（研究担当者名：西浦 博（所属機関名：京都大学））

【研究内容・方法】

動物実験による毒性評価では耐容一日摂取量（TDI）を決定する観点からすると必ずしもサンプルサイズが十分でない。係る実験環境下ではパラメータ推定値の信頼区間が極めて広くなってしまいうため、漸近的正規性を要するブートストラップ法（パラメトリックブートストラップ法）や同じく漸近的正規性を利用するプロファイル尤度に基づくベンチマークドーズ（BMD）の信頼区間の計算がバイアスされた評価となってしまう。そこで、ケースリサンプリングによるブートストラップ法の信頼区間への活用を取り入れて BMD 評価を実施するとともに、他の仕様を含めて詳細の方針を決定する作業を進めた。下記の機能を合わせ持ったソフトウェアを提供することを目標とした。

【研究成果】

A. インターフェース等

インターフェース及び操作形式が異なる2つのバージョンを開発し、いずれに關しても本ソフトウェアをより広く活用してもらうために、ソフトウェア開発で広く使用されている gitweb（あるいは類似のオープンソース Website）において公開することとした。公開のタイミングは内閣府食品安全委員会事務局の評価技術担当と相談をし、令和3年度に公開予定である。

R 上でのコマンド選択形式

GUI (Graphical User Interface) 形式

B. 使用言語

英語化が可能なコードを実装した上で、まずは当初想定ユーザーである行政機関における導入・活用が容易となることを重視して「日本語」を使用した。また、2年度目に英語版を開発した。

C. 対応データタイプ

二値データを採用した。

D. モデリング、BMDL 算出等の速度、精度

既存のソフトウェアと同程度の結果が創出されることを比較検討した。

E. モデリング等の個別機能

以下の機能の搭載を試みた。

用いる数理モデルの組合せが任意に設定可能なモデル平均化機能

以外のモデリング条件、ソフトウェアが推奨するモデリング結果の選定基準を任意に設定可能

F. 結果の出力

解析結果を一般的な文書等に容易に出力できるよう、下記の条件を考慮して工夫した。

BMD 法に供した用量反応データ

BMD 等算出条件：用いた BMR のタイプと数値
プロット、各パラメータの値及び Restriction の有無
BMD 関連指標：BMD、BMDL、BMDU、BMDL/BMDU、BMD(BMDL)/最小観察用量、BMD
の分散等
統計量：適合度検定 P 値、最大対数尤度、AIC 等
平均化に関する情報：各使用モデル名及び重み、bootstrap の反復回数等
ソフトウェアが推奨するモデリング結果の表示

2) 個別課題名：適合度の良いモデルだけに対する平均化機能をもつ BMD 計算 GUI ソフトウェアの実装（研究担当者名：山口 崇幸（所属機関名：滋賀大学））

【研究内容・方法】

本個別課題では、適合度の良いモデルだけに対する平均化機能をもつ BMD ソフトウェアをプログラミング言語 R で実装することとして研究作業を進めた。

【研究成果】

まず、BMD 計算を高速に行うために、Rcpp を用いて R の関数を C++ で記述する方法の採用も検討し、加えて、GUI 設計にする以前の版のコードを内閣府食品安全委員会事務局の評価技術担当および国立医薬品食品衛生研究所の広瀬明彦部長と共有して試験的検討を実施した。その結果、本研究での GUI 設計とは別に、2019 年 9 月 9 日までに毒性試験データの結果に関するテキストファイルをプログラムコードで読み込むことを通じて我々が提供した BMD 法のコードを使用した推定と既存のプログラム（米国 EPA による BMDS およびオランダ RIVM による PROAST 等）との推定値の比較研究を実施することができた。これまでに比較結果を共有してきたが、100 物質の実験データを検討し、PROAST 最新版・BMDS 最新版と開発中ソフトウェアおよびインディアナ大学が公開する BBMD で比較検討を実施したところ、我々の開発中ソフトウェアは PROAST に比較的に近い BMDL 値を得ることが分かったが、同時に 20% 程度の物質で推定結果が NaN（計算不能）の表示が得られた。これは BMD 推定におけるパラメータの初期値あるいは収束条件の問題と考えられるため、それについて修正を入れた。

また、本個別課題ではユーザーが容易に使用できるようにグラフィカルユーザーインターフェース（GUI）の整備を行うこととした。ユーティリティも意識しつつ個々のモデル適合結果や BMD 関連指標の表示などの出力デザインに着手した。GUI を可能にする Tcltk（R の GUI 実装用パッケージ）を利用して、下記の図 1 に示すような操作ウィンドウの設計を実施した。



図 1. ソフトウェアの GUI 操作画面をキャプチャしたもの

3) 個別課題名: バグ (プログラミング上の誤り) のチェック・修正と実装関係者の間のデモンストレーションの実施 (研究担当者名: 西浦 博 (所属機関名: 京都大学)、山口 崇幸 (所属機関名: 滋賀大学))

【研究内容・方法、および成果】

3-1. バグのチェック実施

上記 2) の個別課題においてパラメータの初期値問題あるいは収束条件に関するフィードバックを受けることができ、それに対する対処を行った。今後、GUI として一連の動作を確認した後に、PROAST および BMDs と比較検討する事例を 10 程度の質的に異なる化学物質で行った。その過程および事後の過程で明確にプログラミングに帰すると考えられるバグを修正した。

3-2. ソフトウェアの公開

京都大学大学院医学研究科社会医学系専攻環境衛生学分野あるいはその他の継続的で制限なくアクセス可能な Web からインストール可能なソフトウェアの開発を試みた。

3-3. デモンストレーションの実施とソフトウェア論文の作成

デモンストレーションについては、個別研究課題 6) を参照。ソフトウェア開発を論文として執筆を開始した。また複数の学会で GUI ソフトウェアの開発について発表した。

4) 個別課題名：開発ソフトウェアの日本語版アップデート・英語環境の適応(研究担当者名：西浦 博(所属機関名：京都大学))

【研究内容・方法・成果】

本個別課題では(A)日本語版ソフトウェアの改善と(B)英語版ソフトウェアの開発に関して研究作業を実施する。

A. 日本語版ソフトウェアの改善

初年度に得られたソフトウェア(日本語版)とその仕様などに関して、班会議および事務局との打合せで出された意見及びデモンストレーションを通じて得られるフィードバックを中心に提供すべき機能の改善に取り組んだ。特に、操作画面やユーティリティ、結果出力とマニュアルを対象にソフトウェアのアップデートと改善に取り組んだ。

出力レポートについては、各モデルの詳細(モデルのプロットやパラメータ値)が整理されたページを追加した。条件設定画面の用語を指針の表現に統一した(超過リスク 過剰リスク、付加リスク 追加リスクなどの記載の統一など)。また、モデル平均化結果が妥当でない場合、recommendモデルを導く評価フローで使用する各指標について、その適用の有無や適用する際の閾値を操作者が自由に設定できるようにした。読み込めるデータの列名が「dose」「positive」「sample」「negative」に固定されていたのを、用量やサンプル数に該当する任意の列名を選択できるようにした。本ソフトウェアで出力される英語用語の日本語表記について、英語-日本語対比表を再整理し、研究班と共有された。いくつかの例を挙げると(英語表記 - 日本語表記)、model name - モデル名、AIC-AICmin AIC-最小AIC、BMDMA recommendation note - 注記。改善された日本語版ソフトの画面を図2に示す。またフィードバックを通じて、「レポート出力」タブを削除して、「解析結果の保存」タブを「解析結果の出力」という名称に変更した。海外ソフトウェアの記載を参考に、「sample」を「group size」に、「group size」は「N」、「positive」は「response」に変更した。BMRの単位に%を追加する。出力表記とあわせて、「サンプリング」としている表記を「ブートストラップ反復回数」のように具体的な指標に変更した。初期設定画面のモデル選択において、全モデルに「制限あり」にチェックの入った状態をデフォルトとした。



図2 . 日本語版の初期起動画面

B. 英語版ソフトウェアの開発

公募採択時の評価所見に基づき、英語化による国際展開も加味した上で仕様とコード化の決定を期することとなったが、広く諸外国における毒性評価の危害要因判定に資するソフトウェア作成を期するために、英語版のソフトウェア開発と英語版のGUI操作画面および結果サマリーの提示を実施することを計画して2年度目作業を行ってきた。英語版ソフトウェアの開発と実装をすることができた(図3)。



図3 . 英語版の初期起動画面

5) 個別課題名: GUIソフトウェアの実装とパフォーマンス評価(研究担当者名: 山口 崇幸(所属機関名: 滋賀大学))

【研究内容・方法・成果】

(A)ソフトウェアのバリデーション

いくつかの用量反応データでモデルの推定を行った結果、推定に用いるモデルの初期パラメータを改良する必要があり、プログラムを修正した。テストで用いた用量反応データについては、すべてのモデルでパラメータの推定が成功することを確認した。

(B)既存の毒性評価等で用いられた用量反応データの検討

1-アミノアントラキノン(図4)、2-エチルヘキシルピニルエーテル(図5)、アクリルアミド(図6)の3つの用量反応データに対して、Benchmark Dose Software (BMDS) Version 3.2 (<https://www.epa.gov/bmds/benchmark-dose-software-bmds-version-32-download>)の結果と比較した。同じモデル同士では一部を除いてBMDSと近いBMDやBMDLの値であった。1-アミノアントラキノンでは、BMDSの推奨モデルであるLogisticのBMDSがBMDSでは4.38、開発したソフトウェアであるBMDMAでは0.0555であった。用量反応データが0付近で急激に増加していることと、信頼区間の計算方法の違いが影響していると考えられる。どちらの値が既存の知見から妥当であるかを考え、計算アルゴリズムの選択や修正を行うことは、今後の課題である。

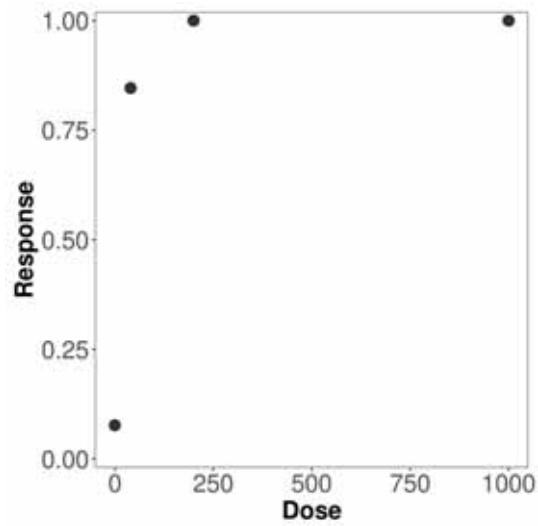


図4 . 1-アミノアントラキノンの用量反応データ

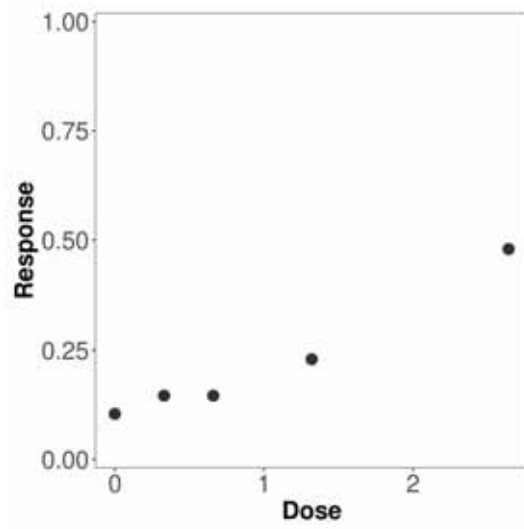


図5 . 2-エチルヘキシルビニルエーテルの用量反応データ

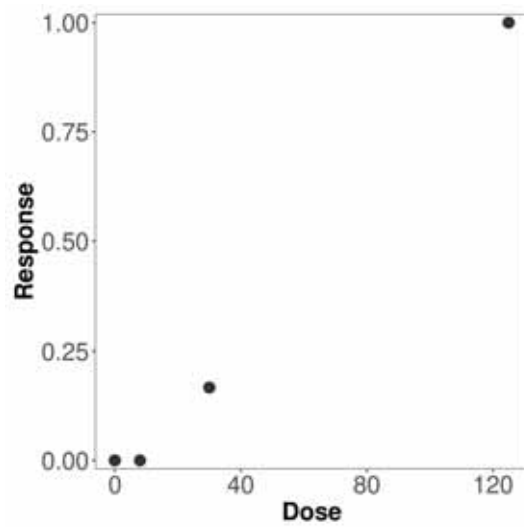


図6 . アクリルアミドの用量反応データ

(C)ソフトウェアの複数OSでの動作確認とソフトウェアのインストール手順のドキュメント作成

Windows 10、Mac OS、Ubuntu 20.04でテスト環境を用意し、R 4.0.2で問題なく動作することを確認した。Windows 10 については仮想環境を用意し、OSインストール直後からのRと開発しているソフトウェアのインストール手順の確認を行った。Windows 10 については、OSクリーンインストール後からのインストールの方法を記述したインストールマニュアルを作成した。また、GUIのスクリーンショットを用いて、使用方法、評価ロジックの説明、実行例、計算結果の説明を記載したユーティリティマニュアルも作成した。

6)個別課題名:実装関係者の間でのデモンストレーションと既存ソフトウェアとの系統的比較検討の実施(研究担当者名:西浦 博(京都大学)、山口 崇幸(所属機関名:滋賀大学))

【研究内容・方法・成果】

(A)デモンストレーションの継続的实施とユーティリティの確認

食品安全委員会事務局の数名と本研究プロジェクトの期間中に3回のデモンストレーションの機会を得た。頂いた意見を参考に、業務で使用しやすいGUI、計算結果のレポート、用語の日本語について改善を施した。図7は設定タブが表示されたウィンドウである。ウィンドウの上部はメニューバーで様々な操作を行える。その下は「各種実行ボタン」、「入力ファイルの設定」がある。「設定」タブには、中央の左から「モデルの選択」「モデル平均化の選択」「BMR」「ブートストラップ」「評価ロジック」の設定がある。評価ロジックは図7に示されるように利用され、推定されたモデルはUnusable、Questionable、Viable (Warning あり)、Viable (Warning なし) のいずれかに分類される。また、「設定」タブの左下には読み込んだデータの表、右下にはグラフが表示されている。

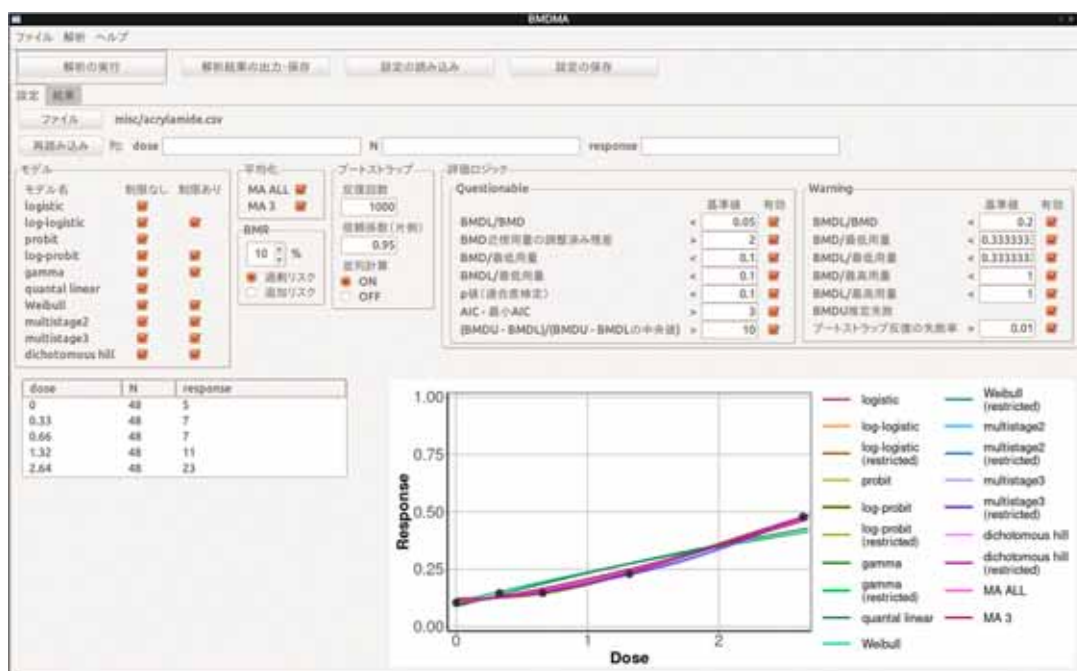


図7. 開発したソフトウェア (BMDMA) の設定タブが表示されたウィンドウのスクリーンショット。中央には、モデル、計算、評価ロジックなどについての設定項目があり、下部にはデータや推定されたモデルのグラフが表示される。

図8は結果タブが表示されたウィンドウであり、解析結果が表で表示される。具体的な項目は、モデル名、自由度、リスクタイプ、BMR、収束、AIC、パラメータ1、パラメータ2、パラメータ3、パラメータ4、BMD、BMDL、BMDU、ブートストラップ反復の成功回数、ブートストラップ反復、信頼係数(片側)、BMDL/BMD、BMDU/BMDL、BMDU推定成功、BMD/最低用量、BMDL/最低用量、P値(適合度検定)、BMD近傍用量の調整済み残差、ブートストラップ反復の失敗率、モデル平均化(MA ALL)における重み、AIC-最小AIC、(BMDU-BMDL)/(BMDU-BMDLの中央値)、モデリング評価結果、BMDMA推奨モデル、注記である。

モデル名	自由度	リスクタイプ	BMR	収束	AIC	パラメータ1	パラメータ2	パラメータ3	パラメータ4	BMD
logistic	2	extra	0.1	0	23.2497916022624	-2.171832798817	0.779295407324763	NA	NA	0.9433824134
log-logistic	3	extra	0.1	0	25.2834620974845	-2.51462022252893	2.19741368331274	0.119814543375696	NA	1.1553930070
log-logistic (restricted)	3	extra	0.1	0	25.2834620974845	-2.51462022252893	2.19741368331274	0.119814543375696	NA	1.1553930070
probit	2	extra	0.1	0	23.3475420757071	-1.28477439481377	0.455686908168623	NA	NA	0.8887781751
log-probit	3	extra	0.1	0	25.3661397762082	-1.51386564656165	1.30520477666192	0.124800998628563	NA	1.1948139981
log-probit (restricted)	3	extra	0.1	0	25.3661397762082	-1.51386564656165	1.30520477666192	0.124800998628563	NA	1.1948139981
gamma	3	extra	0.1	0	27.2212918685193	1.00533379928541	0.1583856071425	0.106976008514408	NA	0.6753482964
gamma (restricted)	3	extra	0.1	0	27.2212918685193	1.00533379928541	0.1583856071425	0.106976008514408	NA	0.6753482964
quantal linear	2	extra	0.1	0	24.8529016904829	0.174420151094051	0.0870298517213886	NA	NA	0.6040616006
Weibull	3	extra	0.1	0	25.2502827934984	1.89341687524621	0.0833707065465956	0.117292557923402	NA	1.1316017731
Weibull (restricted)	3	extra	0.1	0	25.2502827934984	1.89341687524621	0.0833707065465956	0.117292557923402	NA	1.1316017731
multistage2	3	extra	0.1	0	25.214000117261	0.0270111601573497	0.0651256972060126	0.113060447941831	NA	1.0813461821
multistage2 (restricted)	3	extra	0.1	0	25.214000117261	0.0270111601573497	0.0651256972060126	0.113060447941831	NA	1.0813461821
multistage3	4	extra	0.1	0	27.130895243976	0.0943388304029172	-0.023225107325321	0.0246064974143974	0.107454746776043	1.0765076031
multistage3 (restricted)	4	extra	0.1	0	27.130895243976	0.0943388304029172	-0.023225107325321	0.0246064974143974	0.107454746776043	1.0765076031
dichotomous hill	4	extra	0.1	0	27.2834620975962	-2.51460296622449	2.19739790745094	1	0.119814152755103	1.1553851311
dichotomous hill (restricted)	4	extra	0.1	0	27.2834620975962	-2.51460296622449	2.19739790745094	1	0.119814152755103	1.1553851311
MA ALL	NA	extra	0.1	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.9683979096
MA 3	NA	extra	0.1	NA	NA	NA	NA	NA	NA	0.8302954431

図8 . 開発したソフトウェア (BMDMA) の結果タブが表示されたウィンドウのスクリーンショット。計算結果の表が表示されている。

GUIの使い方は設定タブを使って、データの読み込み、各種設定を終えてから、「解析の実行」ボタンを押し、解析を実行する。計算が終わるとグラフと表で結果が表示され、結果を保存するためには「解析結果の出力・保存」ボタンを押すと、フォルダにWord形式のレポート、各モデルの詳細のグラフ(図9)が保存される。

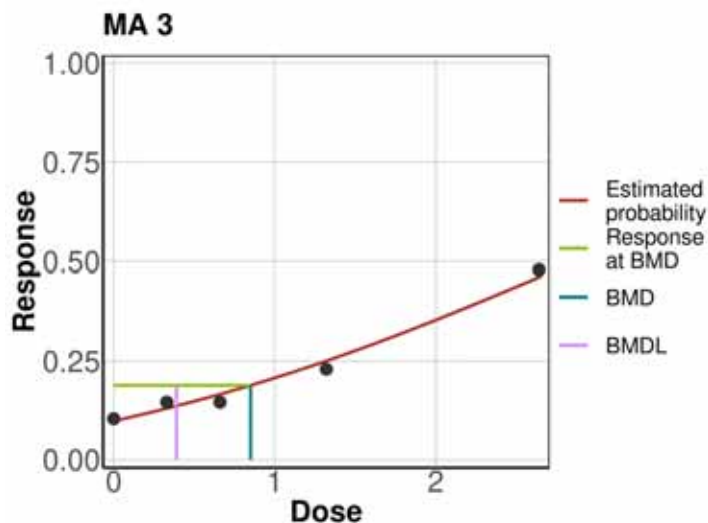


図9 . レポートに表示される各モデルの詳細を表示したグラフ。出力フォルダにはグラフの画像単体も保存される。

(B)既存の毒性評価等を対象とする複数ソフトウェアのパフォーマンス比較

いくつかの用量反応データに対して、BMDs と計算時間の比較を行った。計算時間は、計算機の性能（主にCPU）だけでなく、用量反応データのサンプル数やサンプルサイズに依存する。BMDs はプロファイル尤度に基づく信頼区間の計算方法でBMDLを求めるが、開発したソフトウェア（BMDMA）はブートストラップ法によってBMDLを求めているため、BMDsより計算時間が必要であった。しかし、比較に用いた用量反応データでは、計算時間は数分から長くても数十分であったため、許容範囲であると判断した。

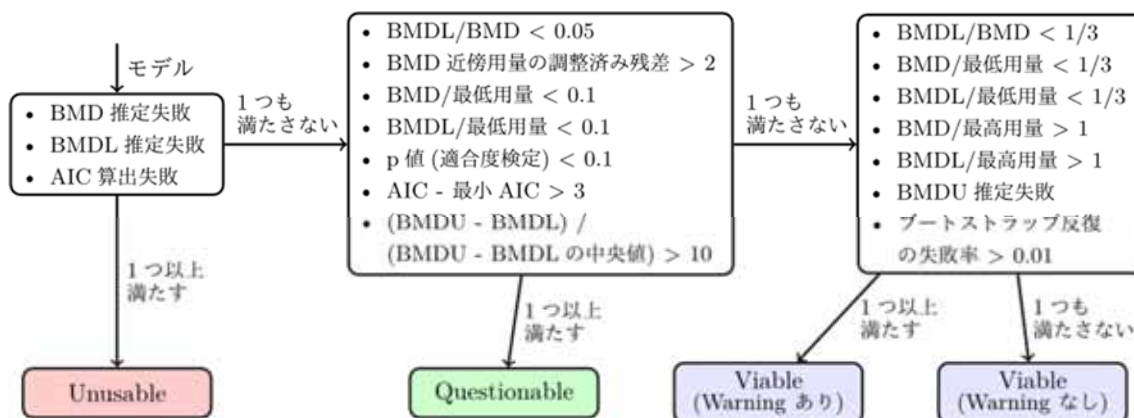


図 10 . 評価ロジック。推定されたモデルは上図にしたがってテストされ、Unusable、Questionable、Viable (Warning あり)、Viable (Warning なし)のいずれかに分類される。

(2) 研究全体の成果、考察及び結論

初年度および2年度の研究成果を踏まえて、契約終了時まで、予定していた日本語版・英語版のベンチマークドーズ計算ソフトウェア開発を成功させることができた。開発された GUI ソフトウェアは2値反応毒性データ評価において、科学的妥当性を担保したモデル選択および平均化を可能にした。疫学データの適用に関して、わが国独自のソフトウェアの開発は、行政機関における評価のみならず、BMD法の実施が広く国内外で行われることにつながるものである。また、既存の海外ソフトウェアとの性能比較を行うことで、そのパフォーマンスを担保、かつ毒性評価をより質の高いものへと導くと期待される。

本研究を基に発表した論文等

1 本研究を基に発表した論文と掲載された雑誌名のリストなし

2 本研究を基にした学会発表の実績

Nishiura H, Yamaguchi T. Benchmark Dose Software for Toxicological Risk Assessment in Japan. Session Title: Biological Modeling, Session Time: 3/18/2020 9:00:00 AM to 3/18/2020 10:45:00 AM. SOT 59th Annual Meeting & ToxExpo, March 15-19, 2020, Anaheim, California. (COVID-19感染症蔓延によりポスターオンライン掲載のみ)

山口崇幸、西浦博．二値反応毒性データ評価におけるモデル選択と平均化機能を兼ね備えたベンチマークドーズ法のGUI ソフトウェア開発．第90回日本衛生学会学術総会、2020年3月26 - 28日、アイーナ(いわて県民情報交流センター)、岩手県(COVID-19のために誌上開催)

山口崇幸、茅野大志、西浦博．毒性データ評価におけるBMD法のソフトウェア開発と他ソフトウェアとの性能比較．第91回日本衛生学会学術総会 2021年 3月 6 - 8日．(オンライン、ポスター発表)

3 特許及び特許出願の数と概要
なし

4 その他(各種受賞、プレスリリース、開発ソフト・データベースの構築等)
第9回藤原洋数理学賞・大賞受賞(西浦博)．2020年11月．

研究開始時に申告した達成目標及び研究全体の自己評価

1 達成目標の自己評価

達成目標	評価結果	自己評価コメント
(1) 初年度開発の日本語ソフトウェアを基にした英語ソフトウェア開発および広く全世界での展開	5	計画通りに英語版も含むソフトウェアの構築・改善と英語版の開発を達成できた。
(2) 開発ソフトウェアの計算結果における妥当性の検証	4	各ソフトウェアを用いた妥当性評価の実施、また Windows をはじめとする複数 OS で動作確認を実施することができ、その改善に取り組むことができた。ユーザーのコンピュータ性能によっては閾値の計算安定性に関する計算速度上の課題のみ残ることとなり、マニュアルを充足することで対応した。
(3) 制作したソフトウェアについて、既存海外ソフトウェアとの性能比較	5	事務局や関係者を含め継続的なデモンストレーションをおこない、既存ソフトとの比較検討を実施することができた。ソフトウェア間の相違と日本でのリスク評価における対応に関しても期間内に事務局と十分に相談の上で公開の準備が整った。

注) 評価結果欄は「5」を最高点、「1」を最低点として5段階で自己採点。

2 研究全体の自己評価

項目	評価結果	自己評価コメント
(1) 研究目標の達成度	5	日本語ソフトウェアおよび英語版ソフトウェアの開発も達成できた他、ソフトウェアの安定した動作確認もすることができ、わが国独自の二値反応の用量反応データを対象としたベンチマークドーズ計算ソフトウェアの開発に成功した。
(2) 研究成果の有用性	4	行政機関および国内外において幅広いBMD法による毒性データ評価の実施が期待できる。
<p>総合コメント</p> <p>日本の食品安全評価に寄与するわが国独自のソフトウェアが確実に開発され、そのパフォーマンスも担保された。今後、食品安全委員会などの行政機関の毒性評価において、BMD法を適用した客観的なガイドラインに基づく評価の遂行に貢献することが期待される。</p>		

注) 評価結果欄は、「5」を最高点、「1」を最低点として5段階で記述。

この報告書は、食品安全委員会の委託研究事業の成果について取りまとめたものです。本報告書で述べられている見解及び結論は研究者個人のものであり、食品安全委員会としての見解を示すものではありません。全ての権利は、食品安全委員会に帰属します。