

構造相関活性(QSAR)ソフトによる気道感作性物質の  
予知予測の検討

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2011-04-27 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 佐藤, 一博, 日下, 幸則, 青山, 公治, 上田, 厚, 原田, 幸一, 大槻, 剛巳, 柴田, 英治, 竹下, 達也, 山下, 邦彦, 土橋, 邦生, 皆本, 景子, 梅村, 朋弘, 田村, 太郎, 宮川, 宗之, 鹿庭, 正昭, 亀尾, 聡美, 井戸, 敏子 メールアドレス: 所属:
URL	<a href="http://hdl.handle.net/10098/3181">http://hdl.handle.net/10098/3181</a>

平成21年度厚生労働科学研究費補助金（労働安全衛生総合研究事業）

分担研究報告 4

構造相関活性（QSAR）ソフトによる気道感作性物質の予知予測の検討

分担研究者	佐藤一博（福井大学医学部環境保健学）
主任研究者	日下幸則（福井大学医学部環境保健学）
分担研究者	青山公治（鹿児島大学医学部衛生学）
分担研究者	上田 厚（熊本大学医学部衛生学）
分担研究者	原田幸一（熊本大学医学部保健学科）
分担研究者	大槻剛己（川崎医科大学医学部衛生学）
分担研究者	柴田英治（愛知医科大学医学部衛生学）
分担研究者	竹下達也（和歌山県立大学医学部公衆衛生学）
分担研究者	山下邦彦（ダイセル化学工業(株)評価解析センター）
分担研究者	土橋邦生（群馬大学医学部保健学科）
分担研究者	皆本景子（熊本大学医学部衛生学）
分担研究者	梅村朋弘（福井大学医学部環境保健学）
分担研究者	田村太郎（福井大学医学部環境保健学）
研究協力者	宮川宗之（労働安全衛生総合研究所）
研究協力者	鹿庭正昭（国立医薬品食品衛生研究所）
研究協力者	亀尾聡美（群馬大学医学部公衆衛生学）
研究協力者	井戸敏子（福井大学医学部皮膚科）

研究要旨：

定量的構造活性相関(QSAR)技術を用いて呼吸器感作性陰性・陽性を判別分析により予測するモデルを作成した。呼吸器感作性物質はEuropean Chemical Bureau (ECB)のR42とR42/43で、コントロールは製品評価技術基盤機構（NITE）のサイトにある化学物質の分類及び表示に関する世界調和分類（GHS）省庁連絡会議作成の非皮膚感作性物質である。61の呼吸器感作性物質と153のコントロールの計214物質を用いて、その二次元三次元構造から約800のパラメーターを創出し、特徴抽出により12パラメーターセットを作成した。このパラメーターセットを用いて、ADMEWORKS/ModelBuider software（富士通）により種々の線形及び非線形の判別分析を行なった。Iterative Least Squares linear discriminant (TILSQ)、Linear Learning-Machine (LLM)とAdaBoostでは100の分類率%を達成した。Support Vector Machine(SVM)を用いた交差反応 (leave-one-out cross validation)による予測率は97.2%だった。このモデルは呼吸器感作性の初期予測に充分適応できると考えられた。

## A. 研究目的

職業性疾患の中では皮膚疾患が最も多い非外傷性の疾患である。皮膚疾患には接触皮膚炎、接触蕁麻疹、失神、皮膚がん等があるが最も多いのは接触皮膚炎である (Fedorowicz et al., 2005)。呼吸器感作による症状としては鼻炎、喘息、過敏性肺臓炎、好酸球性肺炎がある (Sato et al., 2007)。呼吸器感作の頻度は接触皮膚炎に比べて低い、時に重篤となる事がある (Fabbri et al., 1988)。

2003年7月に国連より化学物質の分類ラベル表示の国際調和基準 (GHS) が出版され、2008年からは世界中で実施可能となった (United Nations, 2009)。GHSの感作性の分類基準には動物実験の結果が含まれている。ドイツのDFGやEUの欧州化学庁 (ECB) の皮膚感作性の分類基準にも承認された動物実験の結果が含まれている。更に、EUにおける化学物質の登録、評価、認可及び制限 (REACH) 下では、年間1トンに以上、EUで生産または持ち込まれる全ての化学物質は、環境影響や発がん性や感作性などの健康影響を評価しなければならない事になっている。REACHは動物実験に代わる *in vitro* のテストやQSARによる評価を推奨している。現在、感作性に関しては承認された *in vitro* のテストがないため、QSARによる皮膚感作性の評価が注目を集めている (Patlewicz et al., 2008)。更に、EUでは化粧品指令第7次改訂により、動物実験をした原料を用いた化粧品の販売が禁止された (Carrera et al., 2009)。新規化学物質に対する皮膚感作性のテストとしてOECDガイドラインなど妥当性のテスト

があるが、時間と経費が掛かることが問題である (Golla et al., 2009)。この規制や動物愛護のため、QSARソフトなどコンピュータを用いて発がん性や感作性を評価する方法が近年開発されてきた。幾つかは既に商品化されている。Toxicity Prediction Komputor-Assisted Technology, (Accelys Inc., San Diego, CA, USA; TOPKAT) や Computer-Automated Structure Evolution (MultiCASE Inc., Cleaveland, Ohio, USA; M-CASE) これらは統計を基本とした QSAR で、Deductive Estimation of Risk from Existing Knowledge (Derek) for Windows (DfW, LHASA Ltd., Leeds, UK) は人工知能の QSAR である。Times Metabolism Stimulator for skin Sensitization (LMC, University of Bourgas, Bulgaria; TIMES-SS) はそれらのハイブリッドである (Patlewicz et al., 2007a, Patlewicz et al., 2007b)。我々は ADMEWORKS/ModelBuider (富士通九州システムズ) We also made QSAR model for skin sensitization using ADMEWORKS/ModelBuilder software (Fujitsu Kyusyu Systems Limited, Japan) (Hayashi et al., 2005, Sato et al., 2009) を用いて皮膚感作性の QSAR ソフトを開発したが、これは統計を基本とした QSAR である。

現在、妥当性の検証された呼吸器感作性の動物実験はない (Deutschen Forschungsgemeinschaft, DFG, 2008, United Nations, 2009)。T細胞からのサイトカインのプロフィールにより呼吸器

感作性を判断する動物実験は期待が持てる(Dearman et al., 1996)。皮膚感作性の QSAR ソフトに比べて呼吸器感作性の QSAR ソフトの数は少ない (Agius et al. 1991, Karol et al. 1996, Graham et al. 1997, Seed et al. 2008, Warne et al. 2009, Seed et al. 2010)。今回、ADMEWORKS/ModelBuilder を用いて呼吸器感作性の QSAR ソフトを作成し、Support Vector Machine (SVM)による最も高い予測率が 97.2%であった。

## B. 研究方法

### 1. 使用した化学物質

呼吸器感作性物質はヨーロッパ共同体(EC)の欧州化学庁(ECB)にある R42 と R42/43 の 116 物質。R42 は吸入により感作を起こさせる物質で、定義は「気道に感作を起こす物質、適切な動物実験で陽性である、またはイソシアネート類であること」である。R42/43 は吸入によっても皮膚接触によっても感作を起こす物質である。一方、コントロール 222 物質のうち 4 物質は NITE のホームページにある GHS 省庁連絡会議が分類した気道感作性が 'not classified' すなわち呼吸器感作性物質ではないという報告がある物質。残り 218 物質は皮膚感作性が 'not classified' すなわち皮膚感作性物質ではないという報告がありかつ気道感作性が 'not possible' すなわち気道感作性があるとは分類できない物質である。我々も Graham 同様非皮膚感作性物質を非呼吸

器感作性物質とみなした。しかし、コンピュータ科学においては、無機物質、有機無機金属化合物は一般の有機化合物と一緒に扱えないので、これら 124 物質を除いた 61 の気道感作性物質と 153 物質のコントロール計 214 物質を使用した。

### 2. パラメーターと判別分析

61 の気道感作性物質と 153 のコントロール物質の計 214 化学物質の二次元三次元構造から約 800 のパラメーターを創出し特徴抽出 (頻度の低いパラメーター、多重共線性やノイズパラメーターの除去など) により 12 のパラメーターセットとした。線形学習機会法(LLM)、Neural Network (NN)、Support Vector Machine (SVM)、AdaBoost、最小二乗アルゴリズム(TILSQ)等の種々の線形非線形の判別分析を 12 パラメーターセットを用い行った。分類率と leave-one-out 交差検定による予測率の計算を行なった。解析は全て ADMEWORKS/ModelBuilder(富士通九州システムズ)を用いた。この研究は、福井大学医学部利益相反(COI)委員会の承認を得た。

## C. 研究結果

### 1. パラメーターの重み

R-COO-R の数である Count of substructure (DMPATH) の重みは 0.386210 で、nitrogen (-N-)の数である Count of substructure (DMPATH)の重みは 0.317884 であった。これらの重みは正であり呼吸器感作を誘導すると思われた。一方、-C-である All-path calc for substructure の重みは -0.373663 で Average Energy Resulting from All Group Energies の重みは -0.431519 であった。Average Energy Resulting from All Group Energies は 10 のグループの結合エネルギーの平均である (Andrews binding) (Andrews PR et al., 1984)。

### 2. 判別分析

12 パラメーターセットを用いて呼吸器感作性 61 物質、コントロール 153 物質の計 214 物質の線形学習機械法(LLM)、ニューラルネットワーク(NN)、最小二乗アルゴリズム(TILSQ)、Support Vector machine (SVM)や AdaBoost 等の判別分析と leave-ten-out 交差検定(CV)による予測率を計算した。分類率は 99.53%から 100%で、完全分類(100%)を LLM、TILSQ そして AdaBoost で達成した。Leave-ten-out 交差検定(CV)による予測率は 95.33%から 97.2%だった。最も高い予測率は SVM で 97.2%だった。完全分類(100%)を達成した LLM、TILSQ そして AdaBoost の予測率 95.33%、95.33% そして 96.73%であった。

## D. 考察

呼吸器感作性について十分な実験データが無いために、皮膚感作性の定量的構造活性相関(QSAR)ソフトの開発に比べて呼吸器感作性の QSAR の開発が余り行なわれてこなかった(Rodford et al., 2003)。特に困難なのは、非呼吸器感作性物質であるコントロールの選定である (Kimber et al., 1996)。呼吸器感作性がないと報告されている非呼吸器感作性物質は 4 物質しか無かった。そこで我々は Graham 等と同様、NITE のホームページにある GHS 省庁連絡会議が行なった分類で、皮膚感作性がないと報告されている非皮膚感作性物質を呼吸器感作性と分類不能と確認の上、非呼吸器感作性物質とみなした(Graham et al., 1997, NITinformation)。

最初のコンピューターによる呼吸器感作性物質の構造と活性を調べた方法は単に電子親和力(electrophilic potential)を調べたものだった (Agius et al., 1991)。Graham C (1997)は CASE/MultiCase を用いた呼吸器感作性化学物質の構造活性相関(SAR)モデルを報告している。CASE/MultiCase で 2 つのサブグループのモデルの活性の強さと leave-one-out 交差検定により予測率を評価している。MultiCase では感度 80%で特異度 98%だった。CASE モデルでは、感度は 72%と 75%と低かったが特異度は 98%と 95%だった。外的妥当性の検証では感度 0.95・特異度 0.95 だった (Graham et al., 1997)。

感作性物質は非感作性物質に比べて様々な物理化学的特性が異なる。特に Log P (オクタノール/水分配係数)、分子量、

水溶性、最低空軌道(LUMO)が非感作性物質と異なると報告されている(Graham et al., 1997)。しかし、今回これらのパラメーターは残らなかった。呼吸器感作性物質と皮膚感作性物質の違いもある。抗原形成が気管内の溶液中で起こる呼吸器感作性物質では水溶性が重要と考えられるが、皮膚感作性物質は水溶性が低いすなわち脂溶性が高いことが皮膚透過性に必要と考えられる(Rodford et al., 2003)。我々の皮膚感作のQSARソフト(Sato et al., 2009)では、32パラメーターセットで secondary sp<sup>3</sup> carbon countの重みが0.290789・environment molecular connectivity of substructure (-O-C)の重みが0.28867で、all-path calc for substructure (-C-)の重みが-0.265617で count of substructure (DMPATH) (-ester-)の重みが-0.233505だった。47パラメーターセットでLog Pの重みが-0.05034だった。Leave-one-out 交差検定による予測率は、73.88%~81.44%で、47パラメーターセットのNNで81.44%の予測率が得られた(Sato et al., 2009)。今後、QSAR検証のOECD原則に従い接触皮膚炎の教科書(Coz et al., 2006)にある皮膚感作性物質を使って外的妥当性の検証を行なう予定である。

今回のモデルでは、secondary sp<sup>3</sup> carbon countと environment molecular connectivity of substructureは12パラメーターセットに残らなかった。all-path calc for substructureの重みは-0.373663。count of substructure(DMPATH)(-ester-)の重みは0.386210だった。最も絶対値が高

かったパラメーターは、Average Energy Resulting from All Group Energiesだった(-0.431519)。Average Energy Resulting from All Group Energiesはよく見られる10グループの平均の結合エネルギーを見たものである(Andrews binding) (Andrews PR et al., 1984)。Average Energy Resulting from All Group Energiesのパラメーターは薬のレセプターへの結合具合を見るために使われる。それ故に、受容体への結合が呼吸器感作性において最も重要なものかもしれない(haptenation)。

呼吸器感作性QSARソフトの開発には、実験データを増やす、確かな仮説に基づく特徴抽出の改良、新しいパラメーターの追加、呼吸器感作性に適した判別関数の選択など更なる研究が必要である。

QSARソフトは発展段階でありまだ充分ではないが、未検査の呼吸器感作性物質の試験においもその第一段階としてin silicoの方法が提案されている(Seed et al., 2008)。今回の呼吸器QSARソフトの分類率は99.53%から100%で、予測率(CV)は95.33%から97.2%だった。このQSARシステムは、未検査の化学物質の呼吸器感作性に対する初期段階の予測に応用できると思われる。

## E. 結論

平成21年度の研究計画を予定通り実施できた。世界的にも稀有な呼吸器感作性QSARソフトを開発した。計画通り実施できた。以上は、現在論文投稿中(Sci Total Environ)である。

## F. 引用文献

- Agius RM, Nee J, McGovern B, Robertson A. Structure activity hypotheses in occupational asthma caused by low molecular weight substances. *Ann Occup Hyg* 1991; 35: 129-137.
- Andrews PR, Craik DJ, Martin JL. Functional group contributions to drug-receptor interactions. *J Med Chem* 1984; 27: 1648-1657.
- Carrera GV, Gupta S, Aires-de-Sousa J. Machine learning of chemical reactivity from databases of organic reactions. *J Comput Aided Mol Dis* 2009; 23: 419-429.
- Coz CJL, Lepottevin JP. Dictionary of contact allergens: chemical structures, sources and references. In Frosch PJ, Menne T, Lepoittevin jp editors. *Contact Dermatitis* 4<sup>th</sup> ed. Berlin: Springer-Verlag; 2006. p943-1105.
- Dearman RJ, Basketter DA, Kimber I. Characterization of chemical allergens as a function of divergent cytokine secretion profiles induced in mice. *Toxicol Appl Pharmacol* 1996; 138: 308-316.
- Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG). List of MAK and BAT Values IV Sensitizing substances. Wiley-VCH, Weinheim; 2008: 158-173.
- European Commission. Annex 1 Directive 67/548/EEC on Dangerous Substances.
- <http://ecb.jrc.ec.europa.eu/classification-labelling/search-classlab/>, visited February, 2010.
- Fabbri LM, Danieli D, Crescioli S, Bevilacqua P, Meli S, Saetta M, Mapp CE. Fatal asthma in a subject sensitized to a toluene diisocyanate. *Am Rev Respir Dis* 1988; 137: 1494-1498.
- Fedrowicz A, Singh H, Soderholm S, Demchuk E. Structure-activity models for contact sensitization. *Chem Res Toxicol* 2005; 18: 954-969.
- Golla S, Madihally S, Robinson RL Jr, Gasen KA. Quantitative structure-property relationship of skin sensitization: a quantitative prediction. *Toxicol in vitro* 2009; 23: 454-465.
- Graham C, Rosenkranz HS, Karol MH. Structure-activity model of chemicals that cause human respiratory sensitization. *Reg Toxicol Pharmacol* 1997; 26: 296-306.
- Hayashi M, Kamata E, Hirose A, Takahashi M, Morita T, Ema M. In silico assessment of chemical mutagenesis in comparison with results of Salmonella microsome assay on 909 chemicals. *Mutat*

- Res 2005; 588: 129-135.
- Karol MH, Graham C, Gealy R, Macina OT, Sussman N, Rosenkranz HS. Structure-activity relationships and computer-assisted analysis of respiratory sensitization potential. *Toxicol Lett* 1996; 86: 187-191.
- Kimber I, Bernstein IL, Karol MH, Robinson MK, Sarlo K, Selgrade MK. Workshop overview. Identification of respiratory allergens. *Fundam Appl Toxicol* 1996; 33: 1-10.
- Graham C, Rosenkranz HS, Karol MH. Structure-activity model of chemicals that cause human respiratory sensitization. *Regul Toxicol Pharmacol* 1997; 26: 296-306.
- NITE Information about the status of the implementation of GHS in Japan, \_  
[http://www.safe.nite.go.jp/english/ghs\\_index.html#results](http://www.safe.nite.go.jp/english/ghs_index.html#results) visited on February 20, 2009.
- Patlewicz G, Aptula AO, Uriarte E, Roberts DW, Kern PS, Gerberick GF, Kimber I, Dearman RJ, Ryan CA, Basketter DA. An evaluation of selected global (Q)SARs/expert systems for the prediction of skin sensitisation potential. *SAR QSAR Environ Res* 2007a; 18: 515-541.
- Patlewicz G, Dimitrov SD, Low LK, Kern PS, Dimitrova GD, Comber MIH, Aptua AO, Philips RD, Niemela J, Madsem C, Wedeby EB, Roberts DW, Bailey PT, Mekenyan OG. TIMES-SS—A promising tool for the assessment of skin sensitization hazard. A characterization with respect to the OECD validation principles for (Q)SARs and an external evaluation for predictivity. *Regul Toxicol Pharmacol* 2007b; 48:225-239.
- Patlewicz G, AptulaAO, Roberts DW, Uriarte E. A minireview of available skin sensitization (Q)SARs/Experts systems. *QSAR Comb Sci* 2008; 27: 60-76.
- Rodford R, Patlewicz G, Walker JD, Payne MP. Quantitative structure-activity relationships for predicting skin and respiratory sensitization. *Environ Toxicol Chem* 2003; 22: 1855-1861.
- Sato K, Kusaka Y, Spaecial committee of Japanese Society of Occupational and Environmental Allergy. A proposal for guideline for prevention of allergic occupational asthma-in conformity with the globally harmonized system of classification and labeling o chemicals (GHS). *Int J Immunol Pharmacol* 2007; 20(S2): 51-53
- Sato K, Umemura T, Tamura T, Kusaka Y, Aoyama K, Ueda A, Harada K,



Minamoto K, Otsuki T, Yamashita K, Takeshita T, Shibata E, Dobashi K, Kame S, Miyagawa M, Kaniwa M, Endo Y, Yuta K. Skin sensitization study by Quantitative Structure-Activity Relationships (QSAR). AATEX 2009; 14: 940-946.

Sato K, Umemura T, Tamura T, Kusaka Y, Aoyama K, Ueda A, Harada K, Minamoto K, Otsuki T, Yamashita K, Takeshita T, Shibata E, Dobashi K, Kame S, Miyagawa M, Kaniwa M, Endo Y, Yuta K. A respiratory sensitization study by a new quantitative structure-activity relationships (QSAR). Sci Total Environ (Submitted).

Seed MJ, Cullian P, Agius RM. Methods for the prediction of low-molecular-weight occupational respiratory sensitizers. Curr Opin Allergy Clin Immunol 2008; 8: 103-109.

Seed M, Agius R. Further validation of computer-based prediction of chemical asthma hazard. Occup Med 2010; 60: 115-120.

United Nations. Globally harmonized system of classification and labelling of chemicals (GHS). 3<sup>rd</sup> rev., New York and Geneva, 2009.

Warne MA, Nicholson JK, Lindon JC, Guiney PD, Gartland KPR. A QSAR investigation of dermal and respiratory chemical sensitizers

based on computational chemistry properties. SAR QSAR Environ Res 2009; 20: 429-451.