

ヒト健康影響に関連した QSARとリードアクロス・最新動向

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 毒性部

本発表内容は発表者の個人的な見解であり、国立衛研の
公式見解を反映するものではありません。

■はじめに

■(Q)SAR

- (Q)SARについて
- Ames/(Q)SARとその適用領域
- Ames/(Q)SARモデル改良へ向けた取り組み
- OECD (Q)SAR Assessment Framework

■リードアクロス

- リードアクロスについて
- リードアクロスの実際
- 行政受け入れ促進へ向けた近年の研究開発の動向
 - 実施手順の整備
 - 支援ツールの紹介
 - 不確実性の評価
 - 事例研究
- 今後の展望

■まとめ

■はじめに

■(Q)SAR

- (Q)SARについて
- Ames/(Q)SARとその適用領域
- Ames/(Q)SARモデル改良へ向けた取り組み
- OECD QSAR Assessment Framework

国立医薬品食品衛生研究所 (NIHS)



神田 (東京)
1874-1945 (72年間)



用賀 (東京)
1946-2017 (72年間)



川崎 (神奈川)
2017-

- 日本で最も長い歴史を持つ国立研究所
- 国民の健康と生活環境の維持・向上のため、医薬品、食品、化学製品を評価するための試験・調査や研究を推進
- 新しい評価法を確立し、医薬品、食品、化学製品の管理における新たな指針を提案

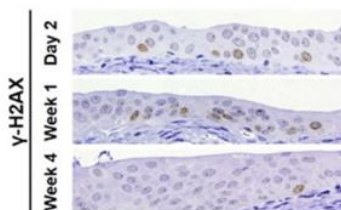
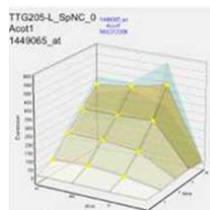
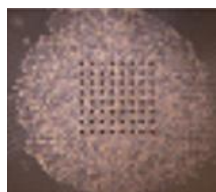


1978年の設立以来、化学物質の研究とリスク評価の双方を実施してきた

研究

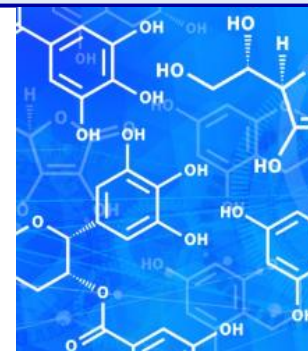
毒性機序に基づくハザード評価の新手法

- ✓ トキシコゲノミクス技術
- ✓ *In vivo* バイオマーカー
- ✓ *In vitro* 代替手法
- ✓ *In silico* 予測モデル
- ✓ 人工知能 (AI)



リスク評価

- ✓ 化学物質
- ✓ 食品関連物質
 - 農薬
 - 香料
 - 器具・容器・包装
- ✓ 医薬品不純物
- ✓ ナノマテリアル



長年にわたり、既存の手法を用いた
毒性試験により、信頼性のある毒性
データを蓄積してきた

ミッション：公衆衛生の確保のため、最新の科学技術を化学物質の
リスク評価に統合し、総合的に評価する

化学物質のリスク評価：

化学物質の使用に関する行政上の意思決定のために、化学物質に曝露後の有害作用の確率に関する情報を提供するプロセス

□ 国内の状況・課題

- ✓ 既存の毒性データその他、国費や事業者により毒性試験を実施して得られたデータを用いて、対象となる化学物質の有害性が着実に評価されてきた。
- ✓ 一方で多数の未評価化学物質があることから、**迅速にリスク評価を進めて、国民の安全を確保する必要がある**（工業化学物質、器具・容器包装物質（特に既存化学物質）、汚染物質・・・）。
- ✓ 製品となる新しい原体化合物に加えて、その代謝物や分解物についても、リスク評価に基づく管理を行うべきであるという国際動向への対応

なぜ*in silico*予測が必要か？

- 毒性情報が不十分、または未評価の化学物質が数多く存在
✓ 代謝物、分解物、不純物など
- 従来の毒性評価は多大な時間やコストを要する
- 公衆衛生に影響しうる問題には、優先的に取り組む必要がある
- 緊急時には迅速な意思決定の必要性がある
- 動物を使わない評価方法への移行を求める社会的要求

■はじめに

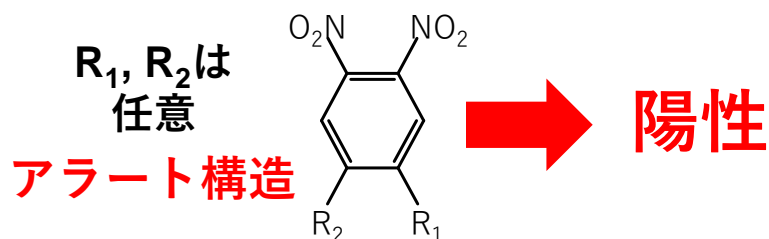
■(Q)SAR

- (Q)SARについて
- Ames/(Q)SARとその適用領域
- Ames/(Q)SARモデル改良へ向けた取り組み
- OECD (Q)SAR Assessment Framework

- (Q)SAR：化学物質の構造とその生物学的な活性との間に成り立つ関係のこと。
また、これにより構造的に類似した化合物の作用や毒性について推定すること。
 - 定性的な関係の場合は構造活性相関（SAR）、定量的な関係の場合は定量的構造活性相関（QSAR）と区別することもある。
- モデルの構築方法により、知識ベースと統計ベースに大別される。

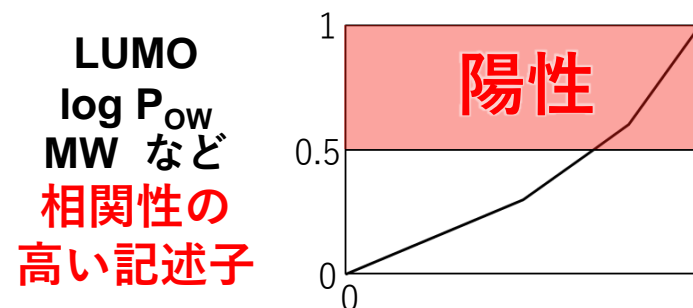
知識ベース Rule-based (Q)SAR

既知データから、毒性試験陽性をもたらす化学物質の特徴的なアラート構造を定義し、ルール化された経験則から、定性的に試験結果を予測： SARに該当



統計ベース Statistically-based (Q)SAR

化学物質の構造や構造がもたらす物性を記述子に変換し、毒性試験結果と相関性の高い記述子を用いて試験結果を予測



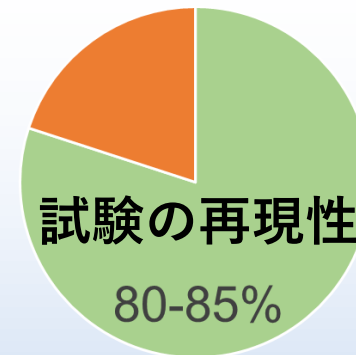
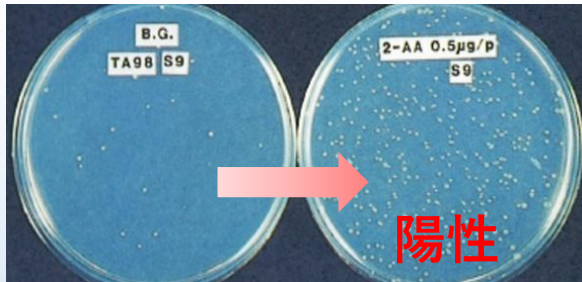
■はじめに

■(Q)SAR

- (Q)SARについて
- **Ames/(Q)SARとその適用領域**
- Ames/(Q)SARモデル改良へ向けた取り組み
- OECD (Q)SAR Assessment Framework

■ *In vitro* 変異原性（Ames）試験

- *In vitro* 遺伝毒性試験のひとつ
- 他の遺伝毒性試験と比べて試験データ数が比較的多い
- 再現性が高い
- 他の遺伝毒性試験と比較すると発がん性および非発がん性物質を検知する能力が高い



単離・生成が難しい物質などについて、Ames試験結果を予測する*in silico*評価であるAmes/(Q)SARは規制利用に有効

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL
REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE

ICH HARMONISED TRIPARTITE GUIDELINE

ASSESSMENT AND CONTROL OF DNA REACTIVE (MUTAGENIC)
IMPURITIES IN PHARMACEUTICALS TO LIMIT POTENTIAL
CARCINOGENIC RISK

M7

Current Step 4 version
dated 23 June 2014

ICH-M7

潜在的発がんリスクを低減する
ための医薬品中DNA反応性
(変異原性)
不純物の評価及び管理
2014年6月

*This Guideline has been developed by the appropriate ICH Expert Working Group and
has been subject to consultation by the regulatory parties, in accordance with the ICH
Process. At Step 4 of the Process the final draft is recommended for adoption to the
regulatory bodies of the European Union, Japan and USA.*

- 対象は低レベルでDNAに直接損傷を与える変異原物質のみ。変異原性はAmes試験により評価する。
- Ames試験の替わりに、(Q)SARを用いて変異原性を評価することができる。
- 変異原性について(Q)SARを用いる際には、複数の(Q)SARの予測を統合し、総合的な予測結果を導出することを求めている。
- 毒性学的懸念の閾値（Threshold of Toxicological Concern, TTC）の適用

ICH: International Conference on Harmonisation of Technical
Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use
(日米EU医薬品規制調和国際会議)

(Q)SARによる医薬品中DNA反応性不純物の評価

- 互いに補完し合う2つの(Q)SAR予測手法を適用すべきである。
一つは知識ベース手法であり、もう一つは統計ベース手法である。



内閣府 食品安全委員会でのAmes (Q)SARの活用

NIHS



■ 評価技術企画ワーキンググループ（2016～）

- 迅速かつ信頼性の高いリスク評価のための新しい評価方法や技術の検討
- In silico評価方法、ベンチマークドーズ法・・・
 - In silico評価方法のためのデータベースや指針の整備

「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～」

食品健康影響評価技術研究

- 食品関連物質に対するAmes変異原性QSARの精度評価
- 変異原性評価への(Q)SAR活用を促進する提案

「食品健康影響評価において(Q)SARを活用し
て変異原性を評価する場合の手引き」

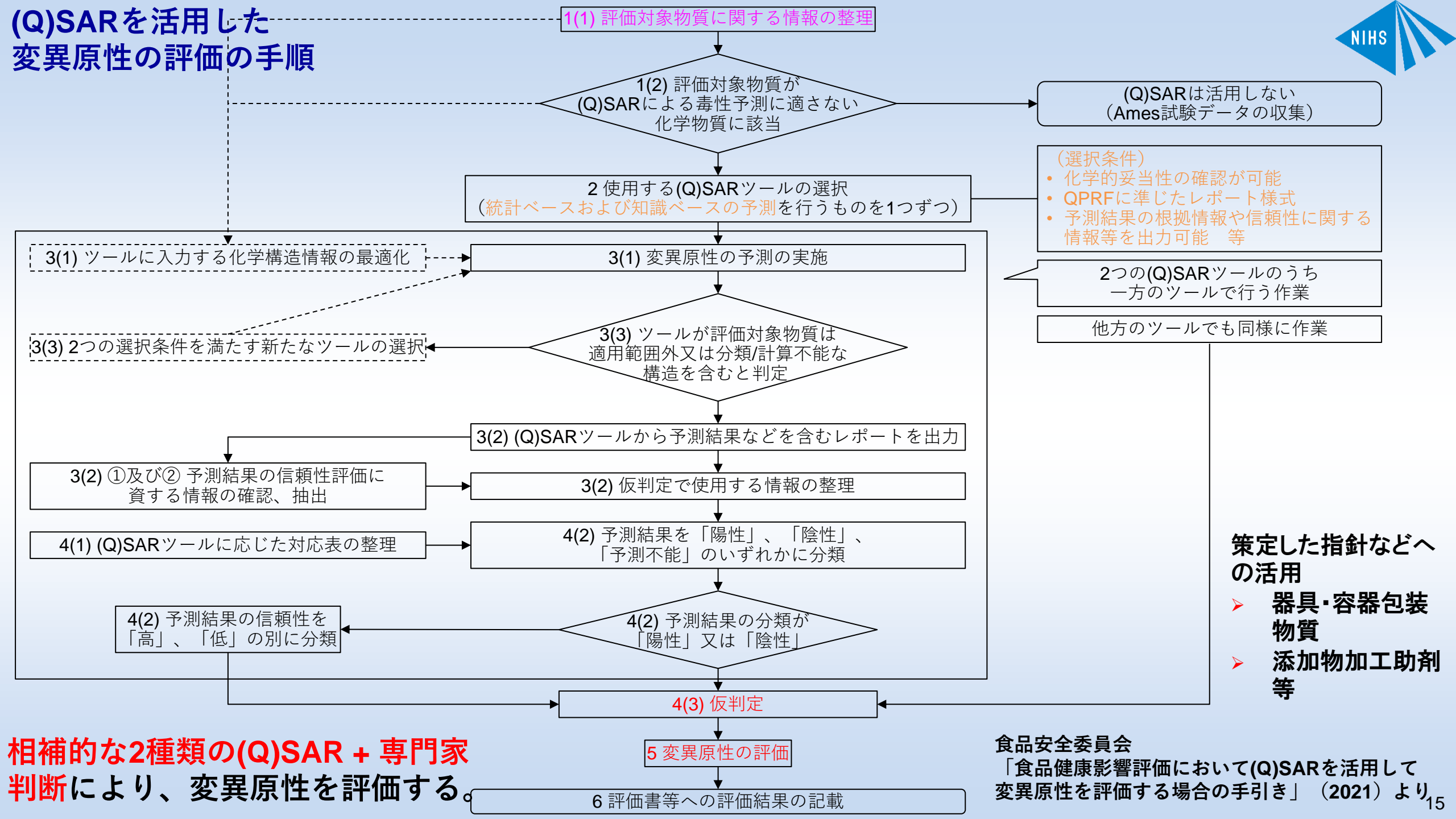
新たな時代に対応した
評価技術の検討
～化学物質の毒性評価のための(Q)SAR 及び
Read across の利用～

2017年7月

食品安全委員会評価技術企画ワーキンググループ

相補的な2つの(Q)SARモデルから得られた予測を統合し、専門家による判断を行うことを定めている。

(Q)SARを活用した 変異原性の評価の手順



■ (Q)SARの規制安全性評価への活用促進に必要な事項

- 精度向上と適用範囲拡大のため、モデル構築用の学習データ（変異原性Ames試験情報）の蓄積
- 外部検証データを用いた公平な評価

学習データ (Training Data)：予測モデルを構築するために使用されるデータセット。このデータを用いて、モデルはデータのパターン、関係性、および特徴を学習する。

外部検証データ (External Validation Data)：学習データとは独立したデータセットであり、構築された予測モデルの汎化性能（未知のデータに対する予測能力）を評価するために使用される。

■はじめに

■(Q)SAR

- (Q)SARについて
- Ames/(Q)SARとその適用領域
- **Ames/(Q)SARモデル改良へ向けた取り組み**
- OECD (Q)SAR Assessment Framework

- Ames/(Q)SARの予測精度向上を目指し、新規の化学物質とそのAmes試験データを用いて、(Q)SARモデルの検証と学習による改良を行った
- ✓ データセット：安衛法*下で実施された、12,000以上の化学物質のAmes試験データ
- ✓ Ames試験結果に基づき、毒性強度を3段階で分類
 - クラスA：強陽性、1,000コロニー/mg以上
 - クラスB：陽性、陰性対照の2倍以上、クラスAには該当しない
 - クラスC：陰性、クラスAにもクラスBにも該当しない

*我が国では新規化学物質の安全性は化学物質審査規制法や安衛法（労働安全衛生法）においてAmes試験などを実施して評価している。国立衛研では厚生労働省・安全衛生部・化学物質対策課化学物質評価室の許可を得て、(Q)SAR精度向上の目的でプロジェクト参加者にデータを提供（11のベンダー、19のモデルが対象）



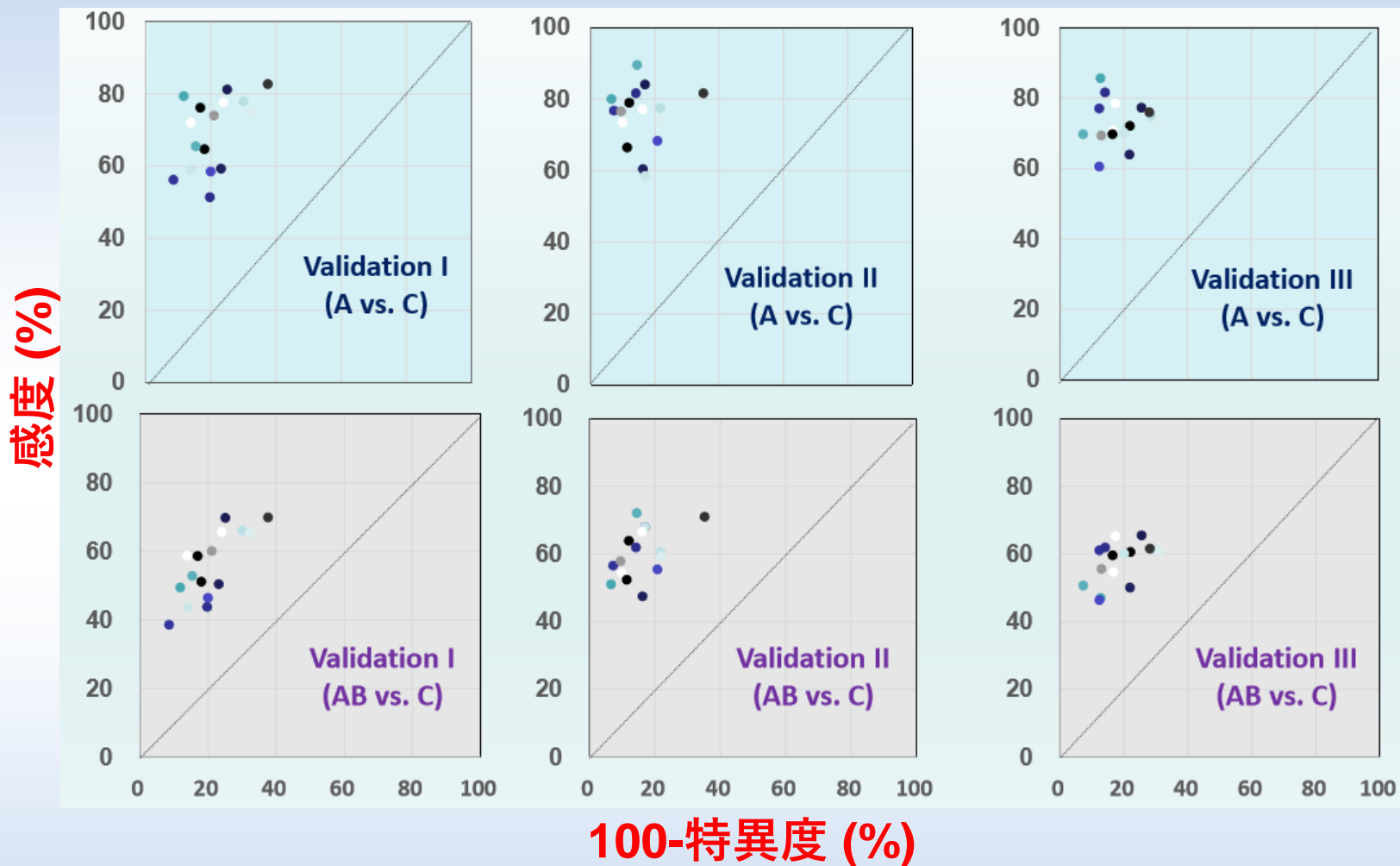
プロジェクトに供された化学物質と試験データ

- 12,000の化学物質を3群に分け、各4,000物質を用いての検証と改良を、フェーズI-IIIの3サイクル実施した



カテゴリー	フェーズI (2014-2015)	→ フェーズII (2015-2016)	→ フェーズIII (2016-2017)	計 (2014-2017)
クラスA	183 (4.7%)	253 (6.6%)	236 (5.4%)	672 (5.5%)
クラスB	383 (9.8%)	309 (8.1%)	393 (8.9%)	1,085 (8.9%)
クラスC	3,336 (85.5%)	3,267 (85.3%)	3,780 (85.7%)	10,383 (85.6%)
計	3,902	3,829	4,409	12,140

(Q)SARモデルの検証結果を示すROCグラフ



ROC (Receiver Operating Characteristic) curve

感度：
陽性を陽性と予測できる割合

特異度：
陰性を陰性と予測できる割合

Honma et al., *Mutagenesis*,
34, 3-16, 2019

➤ 学習と検証を繰り返すことで、感度、特異度を向上させることができた。

Where	1st project DGM/NIHS	2nd project DGM/NIHS
When	2014 - 2017	2020-2022
Who participate	12 teams (7 countries) Mainly QSAR venders	21 teams (11 countries) Academia/non-commercials
What kind predictions	Three trials: ~4,000 chemicals/trial	One trial: ~1,600 chemicals
How many training data provided by DGM	Trial I: 0 data Trial II: ~4,000 data Trial III: ~8,000 data	>12,000 data used at the 1st project
Why	QSAR tool improvements	

より詳細なデータを用い、第2期プロジェクトを実施した。

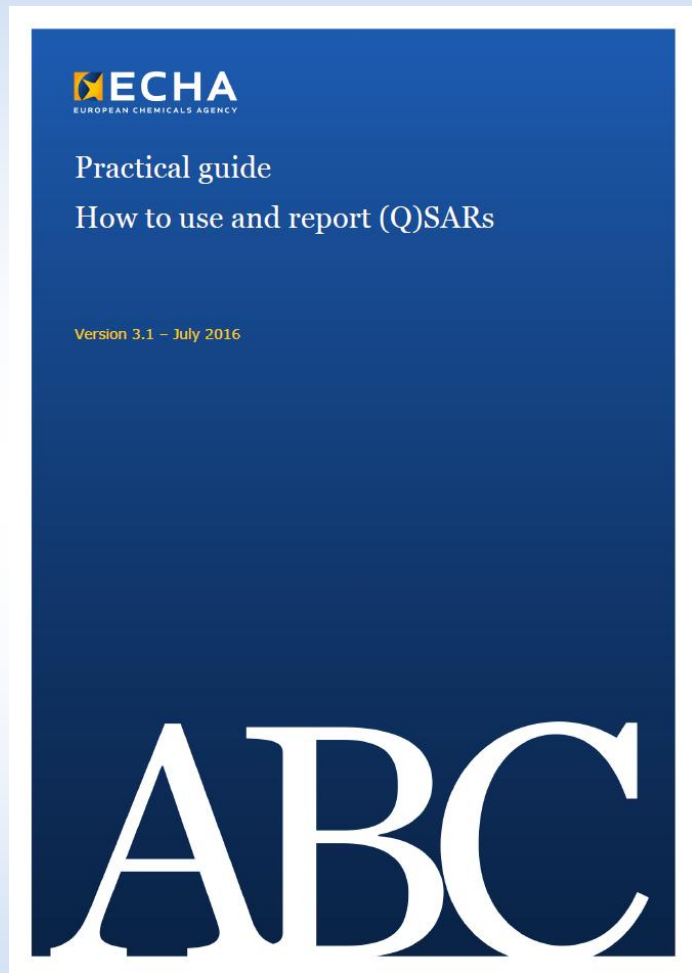
第2期から参加したチームと比較して、**第1期から参加しているチームの開発したモデルは、より感度が高かった。**

Additional data provided to the participants of the 2nd project

CAS RN	Chemical Name	Structure	Result	Purity (%)	Solvent	Without metabolic activation (- S9)					With metabolic activation (+ S9)				
						TA100	TA1535	WP2 uvrA	TA98	TA1537	TA100	TA1535	WP2 uvrA	TA98	TA1537
			++	>99	H2O	++	-	++	++	++	+	+	++	+	+
			++	99.5	DMSO	++	+	+	+	-	++	+	+	+	-

- Purity
 - Solvent
 - Results of each strain
- ++ : Strongly Positive + : Positive - : Negative
- https://www.nihs.go.jp/dgm/2nd_amesqsar.html

Furuhashi, A., et al.,
SAR and QSAR in Environmental Research,
34(12), 983–1001, 2023



ECHAによるREACH規制のエンドポイントに対応している(Q)SARツール

<i>In vitro</i> gene mutation in bacteria (Ames test)	Danish QSAR Database (DTU)	Models for Ames test	Free
	OECD QSAR Toolbox	Several profilers (alerts) associated with this endpoint	Free
	T.E.S.T. (US EPA)	Mutagenicity	Free
	ToxTree (JRC)	<i>In vitro</i> mutagenicity (Ames test) alerts by ISS	Free
	VEGA (IRFMN)	CAESAR, SarPy/IRFMN, ISS and KNN/Read-Across models	Free
	ACD/Percepta (ACD/Labs)	Genotoxicity Module	Commercial
	CASE Ultra (MultiCASE)	Bacterial mutagenicity model bundle	Commercial
	Derek and Sarah (Lhasa)	Mutagenicity <i>in vitro</i>	Commercial
	Discovery Studio (Accelrys)	Ames Mutagenicity	Commercial
	Leadscope	Genetox Expert Alerts Suite and Non-human Genetic Toxicity Suite	Commercial
Mutagenicity (other endpoints than <i>in vitro</i> gene mutation in bacteria)	TIMES (LMC)	Ames mutagenicity	Commercial
	Danish QSAR Database (DTU)	Models for genotoxicity endpoints	Free
	OECD QSAR Toolbox	Several profilers (alerts) associated with mutagenicity	Free
	ToxTree (JRC)	Several decision trees associated with mutagenicity	Free
	CASE Ultra (MultiCASE)	EcoTox model bundle	Commercial
	Derek (Lhasa)	Chromosome damage <i>in vitro</i>	Commercial
	Leadscope	Non-human Genetic Toxicity Suite	Commercial
	TIMES (LMC)	Several models associated with mutagenicity	Commercial

“(Q)SARs and their assessment under dossier evaluation”

3 June 2021 11:00 - 12:30 EET, GMT +2*

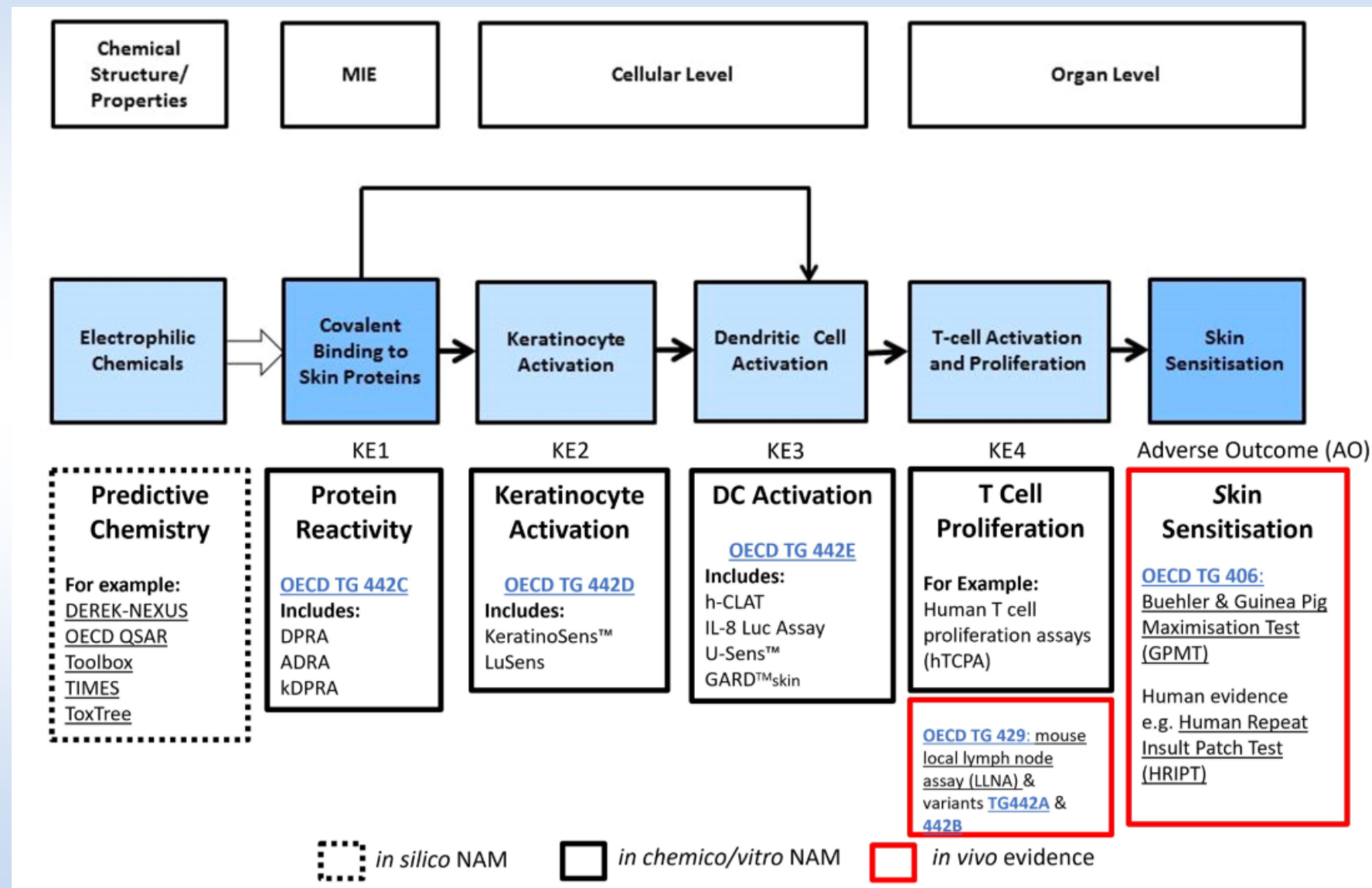


規制の枠組みによって考え方は異なり、例えば、ECHAでは(Q)SARに対しても、OECDの試験ガイドラインNo.471に準拠した5菌株分のデータを求めている。

* [https://echa.europa.eu/-/\(Q\)SARs-and-their-assessment-under-dossier-evaluation](https://echa.europa.eu/-/(Q)SARs-and-their-assessment-under-dossier-evaluation) より動画の視聴が可能

皮膚感作性の有害性発現経路 (AOP) と代替試験法

- 皮膚感作性：医薬部外品、化粧品の安全性評価に重要
- 有害性発現経路 (AOP: Adverse Outcome Pathway) が確立している。
- 各キーイベント (Key Event; KE) を測定する皮膚感作性試験の *in vitro* 代替試験法が開発されている。

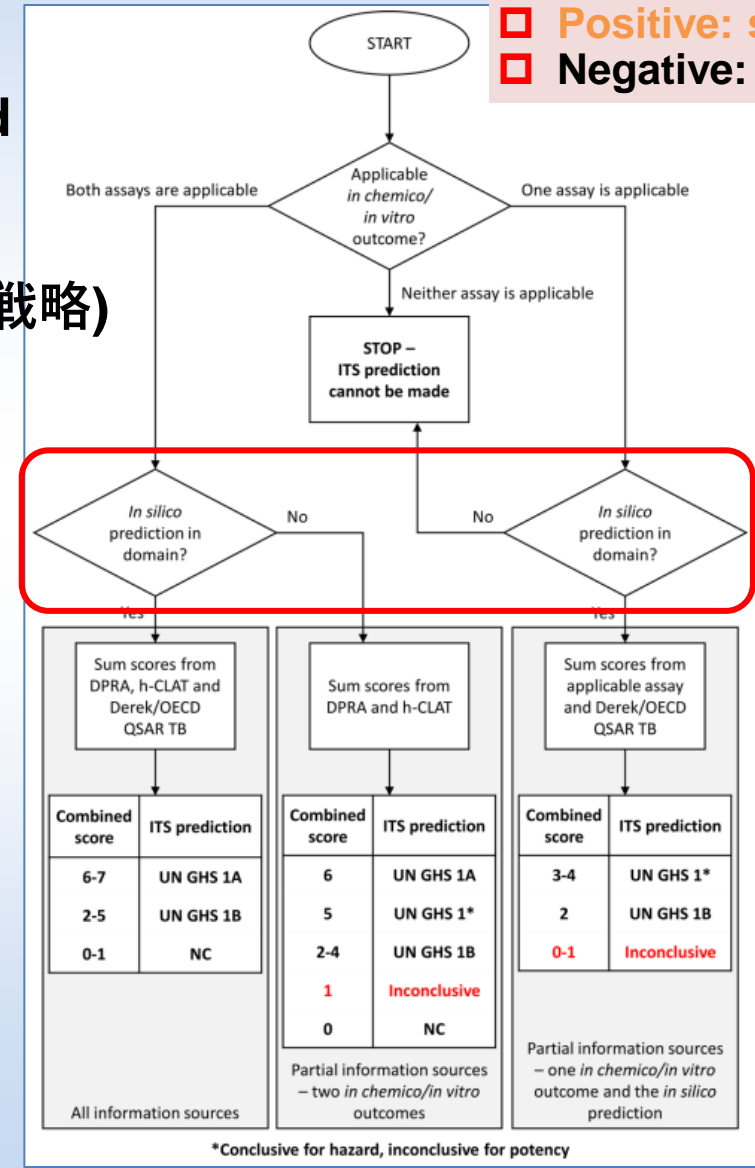


*In silico*手法を用いた皮膚感作性評価のDefined Approach



- **Defined Approach**（定義済み総合判定方式）とは 実施した試験の結果を、専門家による個別判断を経ず、あらかじめ定められたデータ解釈手順に従って解釈して結論を得る手法である。
- 有害性を評価する*In silico*手法を用いる、初のOECDガイドライン
- ITSv1はDEREK、ITSv2はQSAR Toolboxを使用する。

ITS: Integrated Testing Strategy (統合試験戦略)

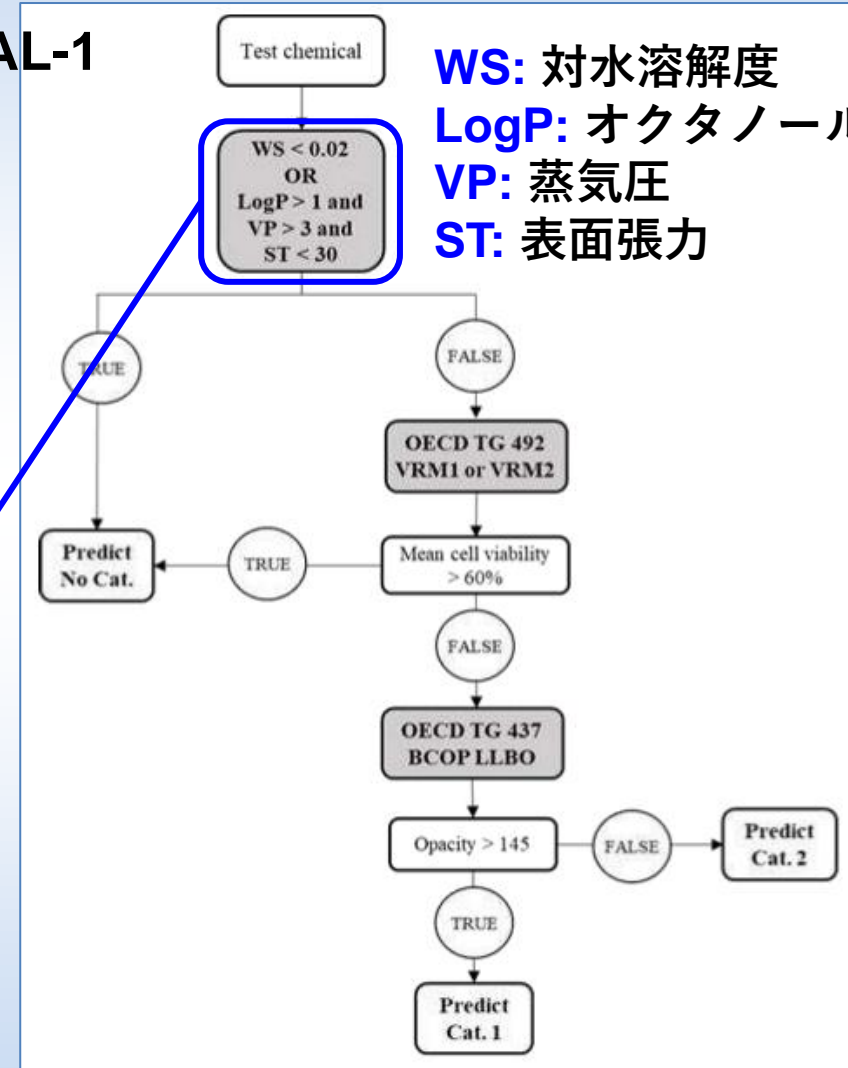


In silico手法を用いた眼刺激性評価のDefined Approach



物理化学性状を示す数値は、公開されているデータベースから入手したり、実験により決定したりするほか、(Q)SARにより予測してもよい。

DAL-1



■はじめに

■(Q)SAR

- (Q)SARについて
- Ames/(Q)SARとその適用領域
- Ames/(Q)SARモデル改良へ向けた取り組み
- **OECD (Q)SAR Assessment Framework**

OECD Principles for the Validation, for Regulatory Purposes, of (Q)SAR Models



- It is necessary to validate if the (Q)SAR model has appropriate performance for the intended use.
- 化学物質管理規制等においてQSARを利用する際には、利用する**QSARが対象とする利用目的に適した性能を備えていることを事前に検証(バリデーション)することが必要**となる。

(Cited from NITE website https://www.nite.go.jp/chem/kanren/kokusai_qsar.html)

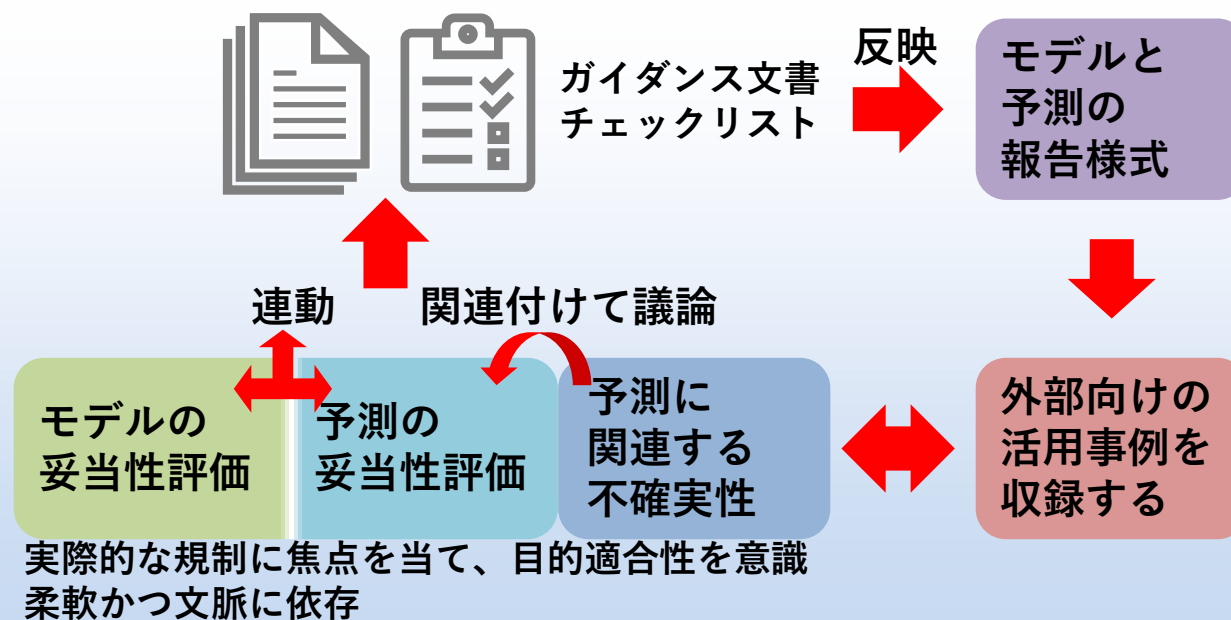
Principles	Summary
1 Defined endpoint エンドポイントの定義	モデル構築に用いられたデータセット/試験系を明らかにすることでモデルによって予測できるエンドポイントの透明性を担保する。
2 Unambiguous algorithm 曖昧さのないアルゴリズム	モデルのアルゴリズム (モデルの種類 (統計モデル/エキスパートモデル等) やモデル構築に用いた手法等) を明らかにし、その透明性を担保する。商用目的のモデルの場合、この情報は必ずしも公開されない。
3 Defined domain of applicability 適用範囲の定義	(Q)SAR モデルの予測性は、モデル構築に使用された学習セットに依存することから、精度の高い予測を行える化学構造・物理化学的特性・作用機構の種類には限りがある。そのため、信頼できる予測をするために、(Q)SARモデルを適用できる化学構造、物理化学的性状、作用機序の限界を明らかにする。
4 Appropriate measures of goodness-of-fit, robustness and predictivity 適合度、頑健性、予測性の適切な評価	適合度と頑健性は、学習セットによって判定される「モデルの内部性能」である。予測性は、適切なテストセットを用いて判定される。
5 Mechanistic interpretation, if possible 可能ならば、作用機序に関する解釈	必ずしも実施可能ではないが、モデルの記述子と予測エンドポイントとの作用機序的な関連性を示す。このような作用機序に関する解釈が可能であれば、原則-3 の適用範囲の一部にもなり得る。

2021年から開始されたOECDワーキンググループ（QAF WG）。各国から関係分野の専門家が参加し、(Q)SARの行政利用のための評価フレームワークについて議論を行った。

[目的]



- 計算モデルからの予測を**規制評価に利用するための体系的で調和のとれたフレームワーク**を開発する。
- この文書の主な対象者は規制当局とそのステークホルダーである。
- 予測の不確実性と信頼性を評価する一貫した手段を提供し、(Q)SARモデルや予測の**既存の報告様式を補完**する。
- 評価フレームワークは、(Q)SARの構築手法や**エンドポイント、規制上の用途に関係なく適用できる**必要があり、一方、**必要な信頼性の水準は状況に依存するため規制当局が定めるという原則**を踏まえる。



QAF ワーキンググループ 体制図



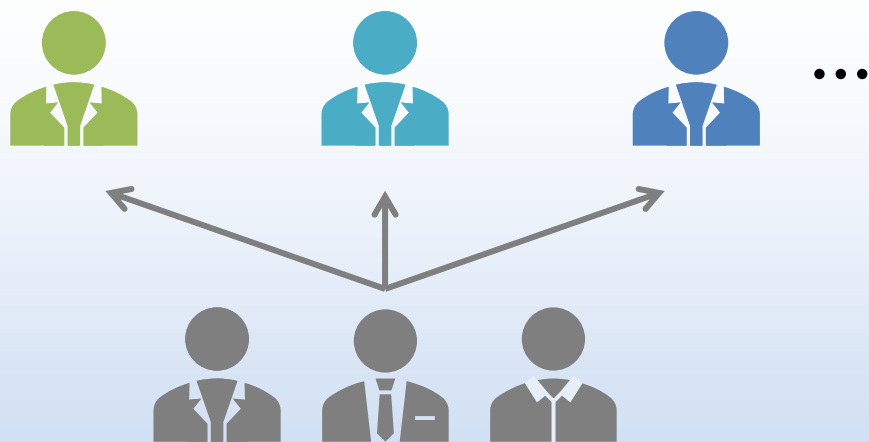
(Q)SAR Assessment Framework Working Group



イタリア国立衛生研究所
(ISS) が主導

サブタスク分担者
趣旨の検討、草案の作成

各国の専門家
草案のレビュー、コメント



・ JaCVAM *in silico*毒性学資料編纂委員会

モデル評価のチェックリスト

原則	評価項目	評価結果
エンドポイントの定義		
1.1	明確な科学的/規制上の目的	
1.2	基礎となる実験データの透明性	
1.3	基礎となる実験データの品質	
曖昧さのないアルゴリズム		
2.1	アルゴリズムおよび/またはソフトウェアの説明	
2.2	入力とその他のオプション	
2.3	モデルのアクセス性	
適用範囲の定義		
3.1	適用範囲の明確な定義およびモデルの制約	
適合度、頑健性、予測性の適切な評価		
4.1	適合度と頑健性（内部検証）	
4.2	予測性（外部検証）	
メカニズムに関する解釈		
5.1	メカニズムの解釈の尤もらしさ	

モデルについての評価の結論

評価結果

コメント

- 意図する規制目的で受け入れられる
- 意図する規制目的でモデルは受け入れられない
- 意図する規制目的でモデルが受け入れられるか判断するには記載が不十分である

- 満たす
- 満たさない
- 非該当/評価対象外
- 記載されていない

判断基準（添付資料）

評価項目ごとに、以下の参考情報が示されている。

- ✓ 目標
- ✓ 確認する内容と方法
- ✓ 実践的なアドバイス
- ✓ 各項目の実施例
- ✓ 報告様式との対応表

OECD principles for the assessment of (Q)SAR predictions and results based on multiple predictions



- It is necessary to validate if the (Q)SAR prediction is acceptable for the intended use.
- (Q)SARを規制利用する際には、予測結果が対象とする利用目的に受け入れ可能であることを検証する必要がある。
- OECD QAF expert group has established these principles.
- (Q)SAR予測結果を評価する際に指標とすべき項目を4つの原則としてまとめたもので、2023年にQAFワーキンググループにおいて新たに定義された。

Principles	Summary
1 Correct input(s) to the model モデルへの入力正しいこと	入力内容が明確かつ完全に説明されており、それが分析対象物質を代表的に表し、信頼性の高いパラメータ（例えば、予測で用いられる記述子のための数値）を使用していれば、正しい入力が行われているといえる。
2 Substance within the applicability domain モデルの適用範囲内にある物質であること	予測モデルが分析対象物質に適用可能であることを求めるものである。適用範囲、またモデル開発者によって定義されたその他のモデルの制約を、分析対象物質が満たすかどうかを確認する。
3 Reliability of the prediction(s) 信頼できる予測であること	適用範囲に加えて、予測結果の信頼性に影響する幾つかの観点について考慮する。
4 Outcome fit for the regulatory purpose 規制目的に適した出力であること	いかに信頼性が高くとも、予測結果は、特定の規制目的に適合しなければ、その規制目的には使用できない。この項目を評価する際に考慮すべき要素は、規制の枠組みによって異なる。

予測評価のチェックリスト

原則	評価項目	評価結果	不確実性 満たす要素のみ
モデルへの入力正しいこと			
1.1	入力とモデル設定を明確かつ完全に説明しているか		
1.2*	評価対象物質を代表的に表す入力か		
1.3	信頼できる入力（パラメーター）か		
モデルの適用範囲内にある物質であること			
2.1	物質が適用範囲内にあるか		
2.2	モデルに関するその他すべての制約が考慮されているか		
信頼できる予測であること			
3.1	再現性があるか		
3.2	モデルの全体的な性能がどの程度か		
3.3	モデルのトレーニングセットの物理化学的、構造および応答空間への適合性があるか		
3.4	類似物質に対するモデルの性能がどの程度か(局所性能)		
3.5*	メカニズムおよび/または代謝が考慮されているか、ある場合どのような内容か		
3.6*	情報に一貫性があるか		
規制目的に適した出力であること			
4.1*	その他の規制要件への適合性があるか		
4.2*	予測される特性は規制要件となる特性と対応しているか		
4.3*	使用する枠組み内における決定可能性があるか		

予測についての評価の結論	
不確実性	
評価結果	
コメント	

・ 高
・ 中
・ 低

- ・ 意図する規制目的で受け入れ可
- ・ 意図する規制目的で受け入れ不可
- ・ 意図する規制目的で受け入れられるか判断するには記載が不十分である

・ 高
・ 中
・ 低

- ・ 満たす
- ・ 満たさない
- ・ 非該当/評価対象外
- ・ 記載されていない

判断基準（添付資料）

評価項目ごとに、以下の参考情報が示されている。

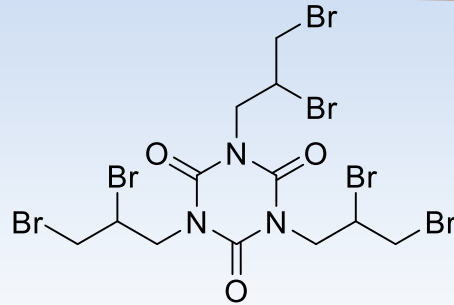
- ✓ 目標
- ✓ 適用性
- ✓ 評価における例外
- ✓ 評価における重み
- ✓ 確認する内容と方法
- ✓ 実践的なアドバイス
- ✓ 各項目の実施例
- ✓ 不確実性（説明と実施例）
- ✓ 報告様式との対応表

NIHSで実施したケーススタディ

CAS RN: 52434-90-9

MW 728.7

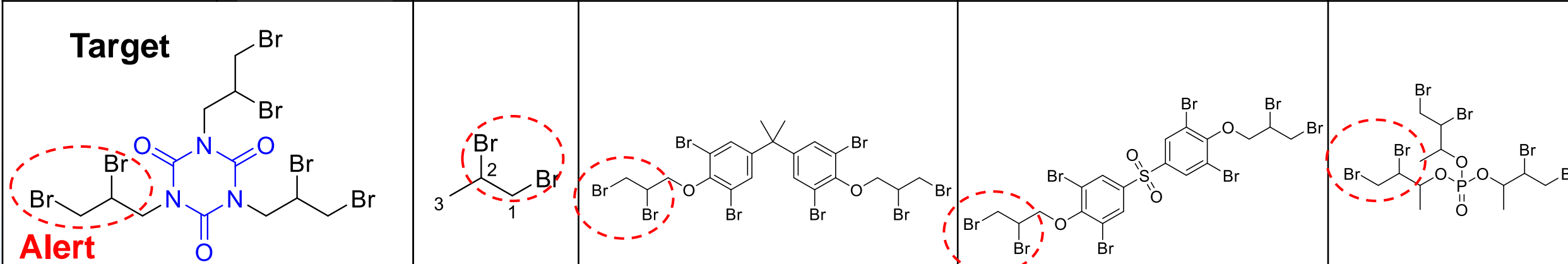
Log P 4.48



(Ames変異原性を予測し、その結果を評価)

- ケーススタディの目的：チェックリストが機能するかを確認する。問題点を抽出し、チェックリストやガイダンス文書の改訂に役立てる。
 - 仮定：仮定の規制の下で、(Q)SAR を使用して既存物質の Ames 変異原性を評価することを想定。
 - ✓ 「スクリーニングやAmes活性が陽性または疑われる物質のリストアップ」を目的とする仮定の規制に基づく。
 - ✓ 仮定の規制当局による評価を行う。
 - ✓ 評価には2つの(Q)SARを使用。
 - ✓ 食品安全委員会の(Q)SAR手引きを参照。
 - 使用モデル：相補的な二つのモデル CASE Ultra (MultiCASE Inc.) および TIMES (LMC)
 - 二つの予測結果やそれぞれの不確実性をどのように統合するかを検討
- チェックリスト・ガイダンス文書の改訂へ反映

局所性能評価のための類似物質

CAS RN	52434-90-9	78-75-1	21850-44-2	42757-55-1	111712-45-9
MW	728.7	201.9	943.6	965.6	739.7
Log P	4.48	2.22	11.26	9.26	6.61
Case Ultra	Positive	Positive	Positive	Positive	Positive
Times	Positive	Positive	Positive	Positive	Positive
Test data*	Positive	Positive	Positive	Positive	Positive
Target					

- AE3.4局所性能を評価するための「類似」物質を定義することは非常に困難である。定義はエンドポイントに特異的、かつ規制に依存する。
- 試験データを有する物質の中に、全体構造が類似した物質は存在しなかった（ハロアルカン基置換を有するシアヌル酸）。

* Both (Either) TA100 and(or) TA1535 positive.

■ 多様なケーススタディの蓄積と共有

- 既にいくつかのケーススタディが公開されているが、陰性予測や複数のモデルによる予測の不一致など、より現実的な条件を想定したケーススタディをさらに蓄積する必要がある。

■ 個々の規制に合わせたカスタマイズの必要性

- QAFは、個々の規制を参照するのではなく、汎用性と一般性を重視している。詳細なルールやカスタマイズを含む、より規制に特化したガイダンスを策定する必要があると考えられる。

- OECD, (Q)SAR Assessment Framework: Guidance for the regulatory assessment of (Quantitative) Structure-Activity Relationship models, predictions, and results based on multiple predictions, Second Edition, OECD Series on Testing and Assessment, No 405, 2024.
 - https://www.oecd.org/en/publications/q-sar-assessment-framework-guidance-for-the-regulatory-assessment-of-quantitative-structure-activity-relationship-models-and-predictions-second-edition_bbdac345-en.html
- QAFについては、日本動物実験代替法評価センター（JaCVAM）にて和訳を作成し、公開した（2025年7月）。
 - <https://www.jacvam.go.jp/sar.html>
- 日本毒性学会HP「毒性学トピックス解説」にQAFの解説記事を寄稿した（2025年7月）。
 - <https://www.jsot.jp/communication/topics.html#word043>

■ リードアクロス

- リードアクロスについて
- リードアクロスの実際
- 行政受け入れ促進へ向けた近年の研究開発の動向
 - 実施手順の整備
 - 支援ツールの紹介
 - 不確実性の評価
 - 事例研究
- 今後の展望

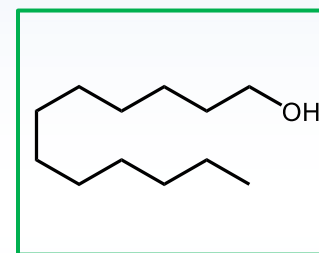
■ まとめ

リードアクロス

- **リードアクロス (Read-across, 類推)** : 毒性データが不足する評価対象物質に対して、類似の化学物質の既存のデータに基づいてデータギャップの補完を行う方法

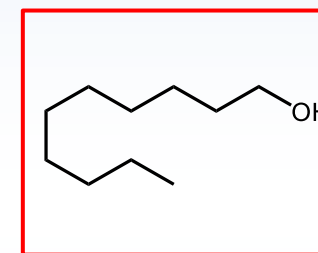
	Source chemical	Target chemical
Property	●	○

● Reliable data ○ Missing data



Known to be
low toxic

Repeated-dose
toxicity?



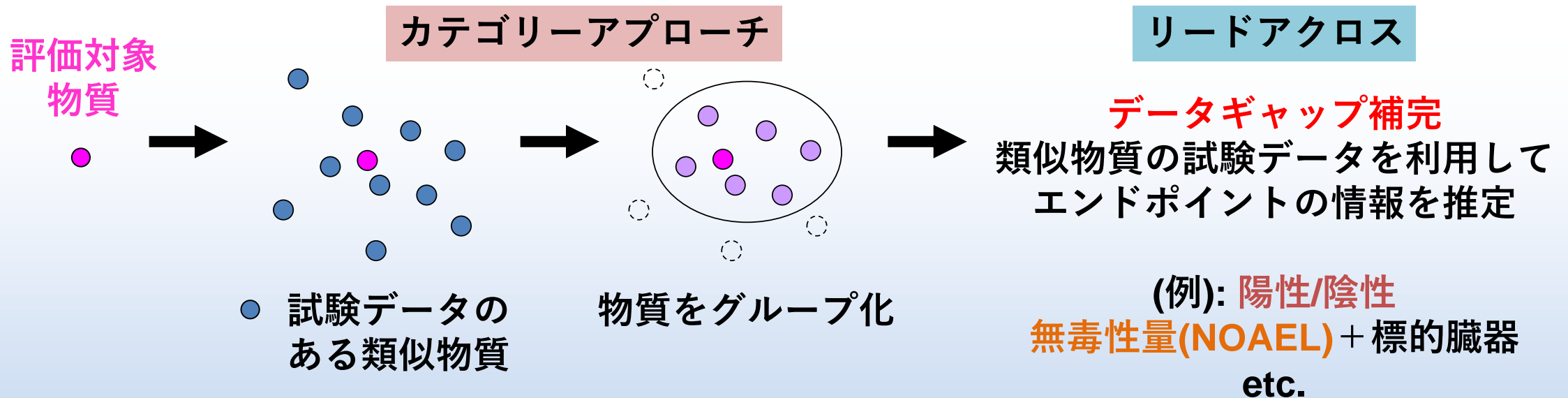
Predicted to be
low toxic

- **Target Chemical** : データギャップを持つ評価対象の化学物質
- **Source Chemical** : 評価対象化学物質との類似性や関連データの有無に基づき、リードアクロスに使用するのに適切な化学物質。参照物質ともいう。

複雑な毒性エンドポイント（例：反復投与毒性、生殖発生毒性等）で、既存の毒性データが多くない場合に、(Q)SAR（(定量的)構造活性相関）より有効

化学物質をグループ化する手法

- アナログアプローチ：ごく少数の物質を基にグループ化する
(例：評価対象物質 + 参照物質1-2種など)
- カテゴリーアプローチ：より広範な類似物質群を基にグループ化し、その特性に明らかな傾向がある場合に使用



リードアクロスが求められる背景



- リスク評価の対象となる未評価の化学物質の数が増加
- 毒性に関する情報が限られている、あるいは全くない化学物質が数多く存在（代謝物、分解物、不純物等）
- 従来毒性試験データを入手するための必要なリソース（時間、コスト）は膨大
- 動物を用いない評価方法への移行を求める社会的要求の高まり
- このような状況を踏まえて、化学物質の規制に関わる国際機関や諸外国の規制当局は利用の促進を図っている。
- 我が国でも食品関連物質や工業化学物質のリスク評価において、行政的な受け入れが検討され始めている。

国際的プログラムでのリードアクロスの実践



■ 高生産量物質（HPV）を対象としたプログラム（1990年代より実施）

➤ 米国EPA HPVチャレンジプログラム

➤ 国際化学工業協会 HPVケミカルイニシアティブ（OECDと共同）



多数のカテゴリーについて包括的な評価を実施

Category	Program	Number of Chemicals	Number of Robust Study Summaries
Aliphatic acids	OECD	78	1125
Alkyl sulfates, alkane sulfonates and olefins	OECD	61	>1300
Aluminum alkoxides	US EPA	2	1195
Amine oxides	OECD	15	180
Fatty acid methyl esters	US EPA	30	>500
Glycerides	OECD	28	748
Hydrotropes	OECD	8	125
Linear and branched alkylbenzene sulfonates (LAS/ABS)	US EPA	9	192
Long chain alcohols (C6-C22 primary aliphatic alcohols)	OECD	30	~1400

コストと実験動物の使用の削減を達成

Endpoint	OECD Guideline	Tests Avoided	Cost per test (USD)	Cost Total Saved (USD)	Animals: number per test	Animals: number replaced
Acute oral toxicity (rodent)	423	174	2,292	398,866	12	2,088
Repeated dose 28-day oral toxicity (rat)	407	248	76,810	19,048,949	40	9,920
Prenatal developmental toxicity (rat)	421, 422	230	84,912	19,529,460	560	128,800
Two-generation reproductive toxicity (rat)		259	143,076	32,907,582	412	94,760
Mouse Erythrocyte micronucleus assay (mouse)	474	13	17,524	227,809	100	1,300
Acute aquatic toxicity (various fish species)	203	177	6,521	1,154,193	42	7,434
Total benefits of reduced vertebrate animal testing				40,359,277-53,737,399		115,502-149,542

Stanton K and Kruszewski F. Quantifying the benefits of using read-across and in silico techniques to fulfill hazard data requirements for chemical categories. Regul. Toxicol. Pharmacol., 2016, 81, 250-259.

■ リードアクロス

- リードアクロスについて
- **リードアクロスの実際**
- 行政受け入れ促進へ向けた近年の研究開発の動向
 - 実施手順の整備
 - 支援ツールの紹介
 - 不確実性の評価
 - 事例研究
- 今後の展望

■ まとめ

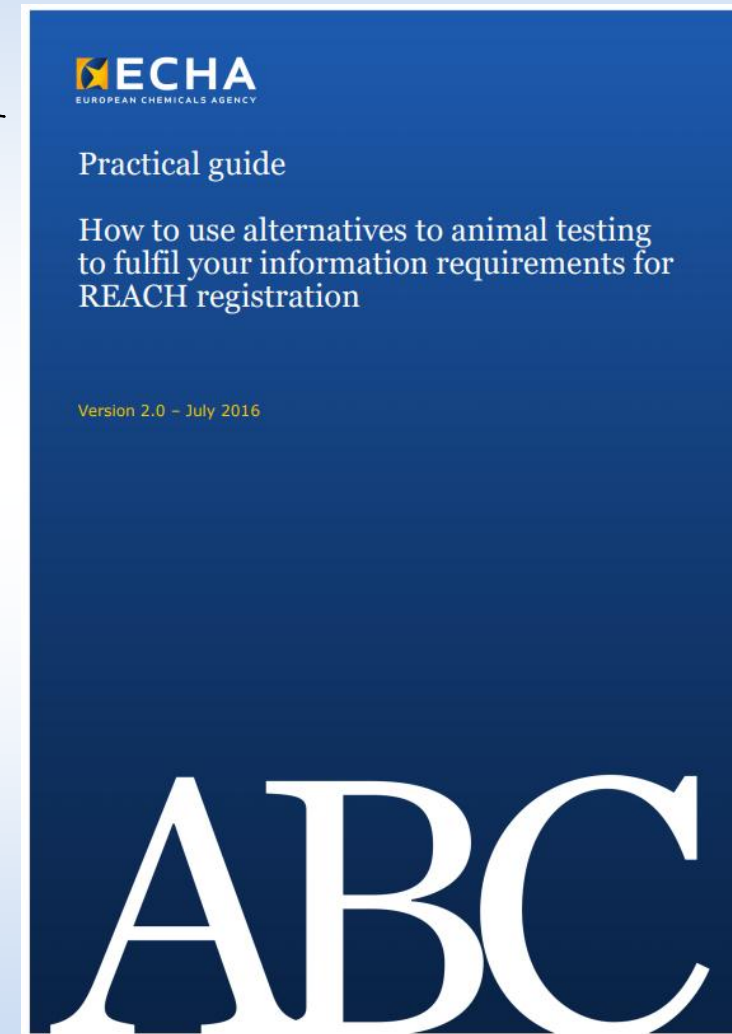
リードアクロスの規制当局への受け入れ性は法規制に依存

REACH: “情報レベルは標準的な試験で得られるものと同等であるべき”

- 現実：リードアクロスの受け入れはしばしば失敗している。
- ある調査では、REACH規制におけるリードアクロスによる評価結果を提出した107物質のうち、受け入れられたのは1、2例しかない*。

リードアクロス却下の科学的理由

- 参照物質と対象物質の曖昧な特徴づけ
- サポート情報の欠如
 - 類似性の仮説が立証されていない
- 科学的妥当性
 - 仮説と矛盾するデータの存在
 - 類似性の主張と矛盾する毒性プロファイル
- 参照物質に関する信頼性の低いエンドポイントデータ

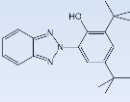
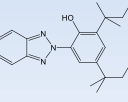
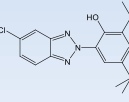
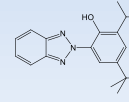
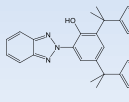
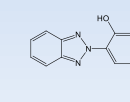
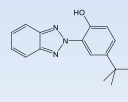
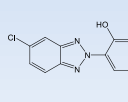
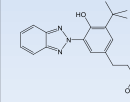
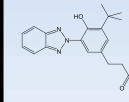
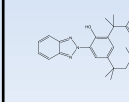
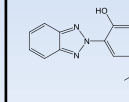


*Ball, S. et al., Toward Good Read-Across Practice (GRAP) guidance. ALTEX, 2016; 33(2): 149-166

リードアクロスの難しさ

- リードアクロスは、類似の化学物質は類似の生物活性を示すという仮定に基づいている。
- 概念的にはシンプル
- しかし、見かけ上、化学構造が類似していても、異なる生物活性／毒性影響をもたらすことがある。
- したがって、リードアクロスの成功の鍵のひとつは類似物質の選定であるが、毒性に繋がると考えられる類似性に焦点を当てる必要があり、類似性の定義はケースバイケースである。
- 科学的妥当性と信頼性の評価は専門家判断への依存度が高い。

関連するデータの収集・解析・包括的な解析

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
													
ADME		A/M/E					D/E			A/D/E			
Transcriptome		CAR PXR PPAR Nrf2		CAR PXR PPAR Nrf2		PPAR	Nrf2	CAR PPAR					
Experimental results	Test Condition	Species: rats Dosing: 0, 0.1, 0.5, 2.5 mg/kg bw/day (male), 0, 0.5, 2.5, 12.5 mg/kg bw/day (female) 52 weeks by gavage	Species: rats Dosing: 0, 100, 200, 400, 800, 1600 ppm 90-day feeding	Species: rats Dosing: 0, 2.5, 25, 250 mg/kg bw/day, 56–57 days for male, 55–69 days for female by gavage	Species: rats Dosing: 0, 0.5, 2.5, 12.5 mg/kg bw/days 42 days (male), 41–55 days (female) by gavage	Species: rats Dosing: 0, 50, 300, 2000, 10000 ppm 90 days by feeding	Species: rats Dosing: 0, 30, 100, 300 mg/kg bw/day 42 days (male), 42–53 days (female) by gavage	Species: rats Dosing: 0, 12500, 25000, 50000 ppm 30 days of feeding	Species: rats Dosing: 0, 62.5, 250, 1000 mg/kg bw/day 42 days for male, 44–56 days for female by gavage	Species: rats Dosing: 0, 50, 200, 1000 mg/kg bw/day 28 days by gavage			
	NO(A)EL (mg/kg bw/day)	0.1 (0.0003 mmol/kg bw/day)	100 ppm ca. 20 (0.057 mmol/kg bw/day)	2.5 (0.007 mmol/kg bw/day)	2.5 (0.008 mmol/kg bw/day)	50 ppm ca. 2.5 (0.0056 mmol/kg bw/day)	< 30 (< 0.133 mmol/kg bw/day)	5658 (17.49 mmol/kg bw/day)	1000 (3.167 mmol/kg bw/day)	< 50 (< 0.141 mmol/kg bw/day)			
	Liver effects	weight increase, hypertrophy of hepatocytes (0.5 mg/kg bw/day in male, 12.5 mg/kg bw/day in female), altered hepatocellular foci (0.5 mg/kg bw/day in male)	focal necrosis, bile duct proliferation, parenchymal cells enlarged (200 ppm in male and female)	weight increase (25 mg/kg bw/day in male) non-adverse	weight increase (12.5 mg/kg bw/day)	weight increase, hypertrophy, and/or cytoplasmic vacuolation of hepatocytes (2000 ppm in male, 300 ppm in female)	weight increase (30 mg/kg bw/day in male, 100 mg/kg bw/day in female), hypertrophy of hepatocytes (300 mg/kg bw/day in male, 100 mg/kg bw/day in female)	No effects	No effects	weight increase, necrosis, hypertrophy of hepatocytes (50 mg/kg bw/day in male), diffuse hypertrophy of hepatocytes (50 mg/kg bw/day in female)			
	Other Organs effects	No effects	Kidney effect: tubular necrosis (200 ppm in male), Hematological effects (200 ppm in male),	No effects	Kidney effect: weight increase (12.5 mg/kg bw/day)	No effects	Kidney effects: degeneration and regeneration in proximal tubules (100 mg/kg bw/day in female),	No effects	No effects	No effects			
	GLP?	GLP	Non-GLP	GLP	GLP	GLP	GLP	Non-GLP	GLP	GLP			
Read-across	NO(A)EL (mg/kg bw/day)												
	Liver effects												
D-value (mg/kg bw/day)		0.001	0.010	0.004	0.004	0.0125	0.005	9.43	5	0.008			

- 関連するデータを収集し、包括的に解析を行って、リードアクロスを正当化する必要
- 評価対象物質と類似物質の種々のデータをデータマトリックスにして、どこにデータギャップがあるか、データの類似性や傾向を把握するために、わかりやすく整理することが求められる。

★ 有害性評価の必要性

< 64 (< 0.141 mmol/kg bw/day)	2.5 (0.0056 mmol/kg bw/day)	< 35 (< 0.133 mmol/kg bw/day)
Hepatotoxic effects	Hepatotoxic effects	Hepatotoxic effects
0.011	0.004	0.006

リードアクロスの科学的信頼性を高める鍵は ロジックと裏付け情報である



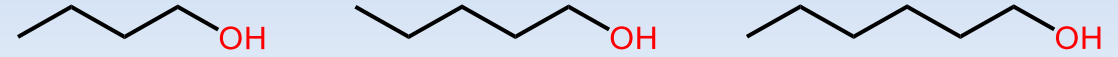
- 類似性の仮説を正当化する。
 - 構造的な違いがあるにもかかわらず、毒性が類似していると考えられるのはなぜか？
 - 構造の違いによる影響を考慮する。
- 仮説に合わせた情報を提供する。
 - 全身毒性を対象とする場合、代謝／トキシコキネティクス (TK)
 - トキシコダイナミクス (TD) の観点から特性を比較できるブリッジング試験
 - (Q)SARの結果と *in vitro*試験データを適用できる。
- 必要な関連情報は毒性エンドポイントに依存する。
 - シンプルなエンドポイント (構造活性相関)
 - 複雑なエンドポイント (TK/TD、評価対象の化学物質の性質にも依存)
- (カテゴリーアプローチでは) 対象物質は適用可能な領域内でなければならない。

類似物質の検索における留意点

- 類似性の仮説は物質自体の性質にも、毒性エンドポイントにも依存する。
 - ✓ 遺伝毒性や皮膚感作性のような比較的シンプルな毒性エンドポイントでは、化学構造や化学反応性などへの依存度が大きく、構造活性相関が中心的と考えられる。
 - ✓ 一方、反復投与毒性や生殖発生毒性のような複雑なエンドポイントでは、トキシコキネティクスやトキシコダイナミクスが考慮されなければならない。
- 物質の性質と毒性エンドポイントの両面から適切な類似性を定義するためには、多岐にわたる深い知識を有する専門家の判断が必要となる。
- 一方で、既存の物質の試験データは、実施機関や根拠となる法規制などに応じて点在しており、類似物質の試験データ探索そのものも容易ではない。
 - ✓ 類似物質のデータを漏れなく収集し、その質を把握することは、類似性の定義に始まり最終的な推定値の算出に至るまでのリードアクロスの一連のプロセスで重要である。

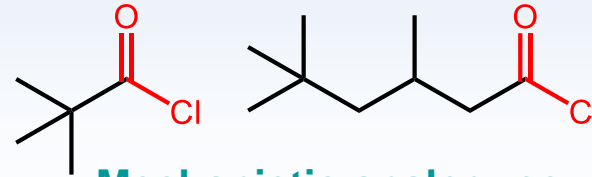
類似物質の考え方

■ 全体構造による類似物質



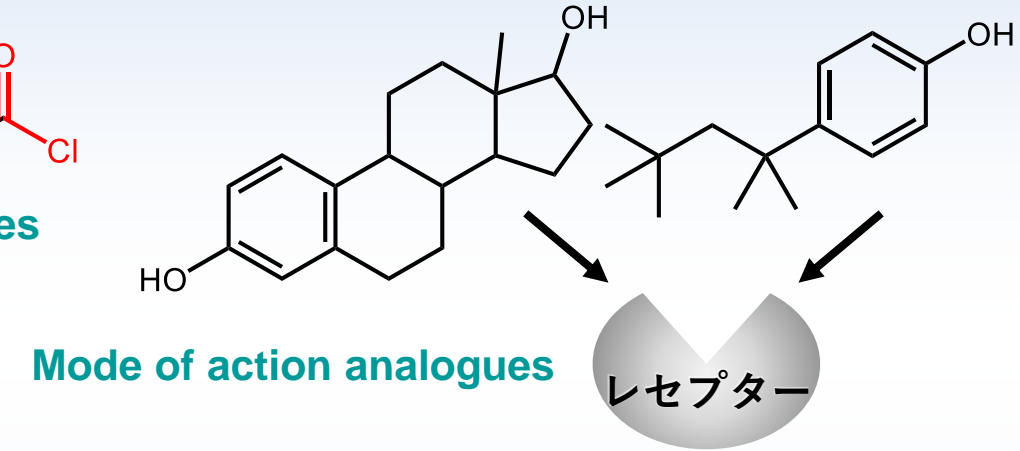
Structural analogues

■ 反応性部分構造による類似物質



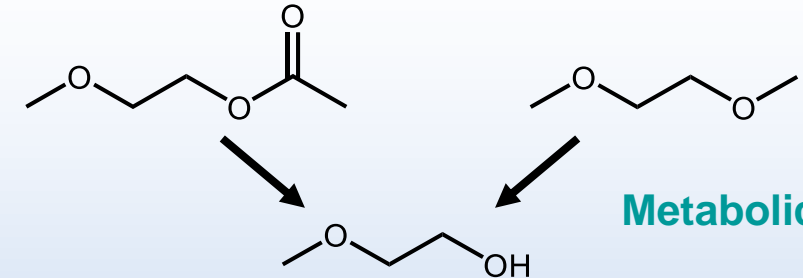
Mechanistic analogues

■ 作用機序による類似物質



Mode of action analogues

■ 代謝、分解により共通の分子になる物質



Metabolic analogues

➤ カテゴリー/アナログアプローチの根拠は、これらの1つ以上の根拠に基づいている。

■ リードアクロス

- リードアクロスについて
- リードアクロスの実際
- 行政受け入れ促進へ向けた近年の研究開発の動向
 - 実施手順の整備
 - 支援ツールの紹介
 - 不確実性の評価
 - 事例研究
- 今後の展望

■ まとめ

近年の国際動向（ガイダンスの公開）

■ OECD (Organization for Economic Co-operation and Development: 経済協力開発機構) “Guidance on grouping of chemicals”（第3版：2025年公開）

- あらゆる化学物質のグループ化とリードアクロスに関する世界標準の基本指針
- 規制分野を問わず国際的に参照されている基盤的なガイダンス
- EFSAの新ガイダンスにおいても、その基本原則として引用・準拠されている専門的指針

https://www.oecd.org/en/publications/guidance-on-grouping-of-chemicals-third-edition_b254a158-en.html

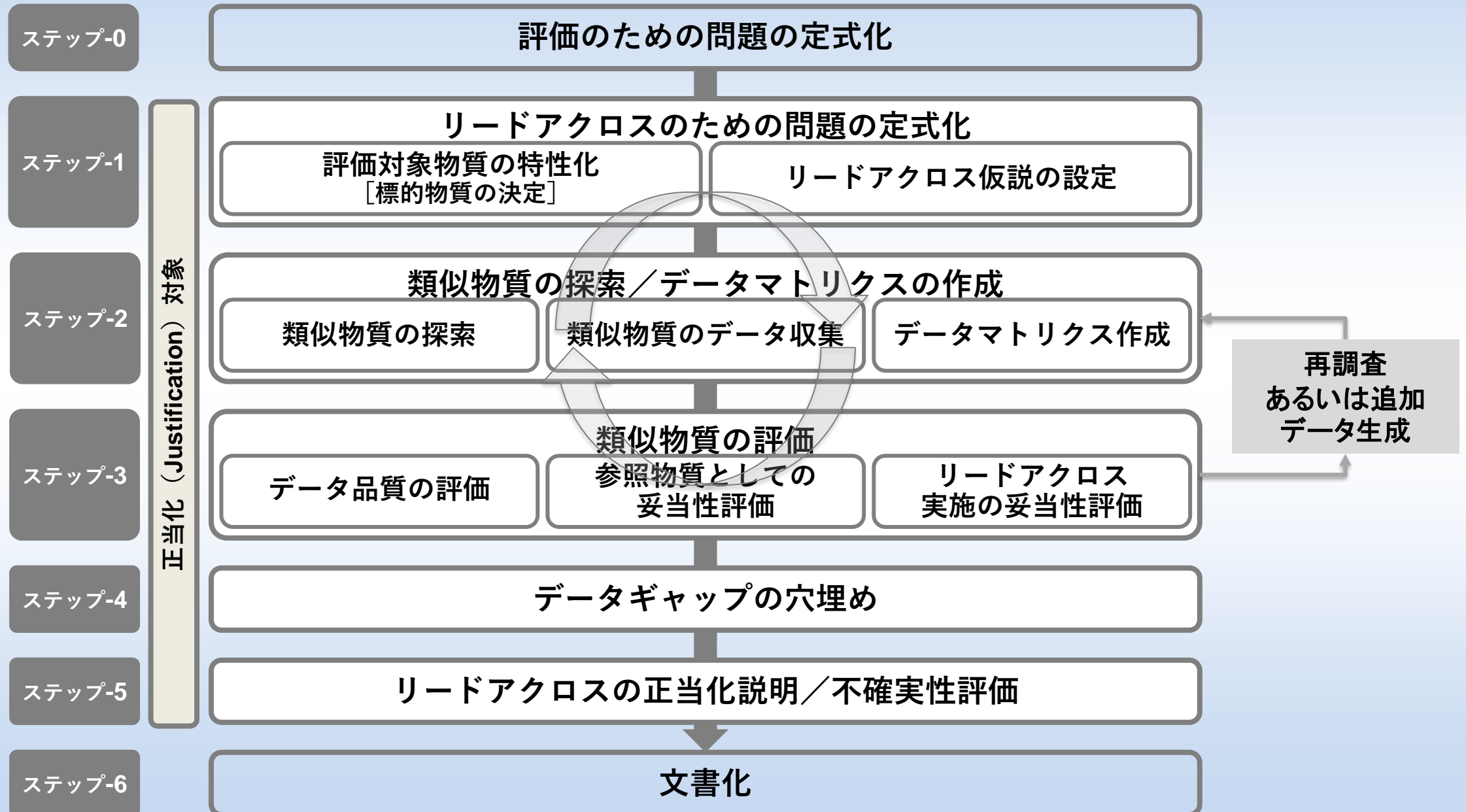
■ EFSA (European Food Safety Authority: 欧州食品安全機関) “Guidance on the use of read across for chemical safety assessment in food and feeds”（2025年公開）

- 食品分野のリスク評価に特化した、実務的かつ最新の運用指針
- OECDの基本原則をベースに、EFSAの管轄分野における具体的な適用要件を定義
- NAMsの統合や、専門家判断による不確実性評価を重視し、科学的根拠の透明性を高めるための構造化されたワークフローを提示

<https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.2903/j.efsa.2025.9586>

OECDガイダンスが「何ができるか（定義・原則）」を示しているのに対し、EFSAガイダンスは「（食品安全において）どのように正当化し、不確実性を管理すべきか（具体的なステップ）」を詳述している。

リードアクロスの実施手順



支援ツール(1) : OECD QSAR Toolbox

- リードアクロスによりデータの欠落を補完するツール（無料で利用可能）
(<https://qsartoolbox.org/>)
- 類似物質の検索機能・グループ化を支援する機能と、種々の規制エンドポイントの試験データ（データベース）を備えている。
- 継続的に機能の改良が行われている（サステナビリティ）。

QSAR Toolbox 4.5 [Document 1]

QSAR TOOLBOX

Input Profiling Data Category definition Data Gap Filling Report

Gap Filling Workflow Editor

Trend analysis Read across (Q)SAR Automated Standardized New Import Export Delete

Documents

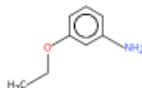
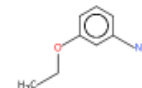
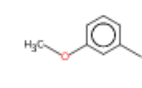
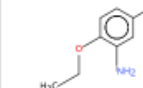
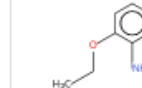
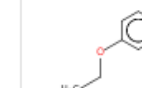
- Document 1
 - [C: 1;Md: 1;P: 0] Search chemical
 - [C: 858;Md: 4675;P: 0] Aliphatic Carbon
 - [C: 6;Md: 35;P: 0] Subcategorized:

Filter endpoint tree...

Structure

Structure info

- Additional Ids
- CAS Number
- CAS-SMILES relation
- Chemical name(s)
- Identity
- Molecular formula
- Predefined substance type
- SMILES

1 [target]	2	3	4	5	6
					
EC Number:2106802	EC Number:2023564	EC Number:2086514		EC Number:2023564	EC Number:2058555
621-33-0	94-70-2	536-90-3	5862-77-1	94-70-2	156-43-4
High	Not applicable	High	Low	High	High
3-Ethoxy-phenylamine	2-Ethoxyaniline	3-Anisidine	2,4-Diaminoethoxybe...	2-Ethoxy-phenylamine	4-ethoxy-aniline
Sources:9	Sources:1	Sources:19	Sources:4	Sources:11	Sources:27
C8H11NO	C8H11NO	C7H9NO	C8H12N2O	C8H11NO	C8H11NO
Mono constituent	Mono constituent	Mono constituent	Mono constituent	Mono constituent	Mono constituent
CCOC1cccc(N)c1	CCOC1cccc(N)c1	COc1cccc(N)c1	CCOC1ccc(N)cc1N	CCOC1ccccc1N	CCOC1ccc(N)cc1

支援ツール(2): 有害性評価支援システム統合プラットフォーム (HESS)



- エンドポイント：反復投与毒性
- 信頼性が高い試験データ
- 試験の用量反応データを参照可能

Chemical name: allyl valerate; pentanoic acid, 2-propenyl ester
CAS No: 6321-45-5
SMILES: CC(=O)CCCCOC=C

Report
Metabolism

Endpoint	Study No. (Link to SSRDT)	Chemical No. (Link to HESS DB)	RTD Report No.	Rat Liver Metabolism Database	Repeated dose (HESS)
Repeated Dose Toxicity	(3/52)	M: 12 mg/kg/day ... M: 50 mg/kg/day ... M: 62 mg/kg/day ...			
NOEL					
Blood Chemical Examination	(1/26)	M: 12 mg/kg/day ...			
General Signs	(3/195)	M: 25 mg/kg/day ... M: 400 mg/kg/day ... M: 31 mg/kg/day ...			
Hematological Examination	(1/57)	M: 12 mg/kg/day ...			
Histopathological Findings	(3/1089)	M: 12 mg/kg/day ... M: 25 mg/kg/day ... M: 31 mg/kg/day ...			
Necropsy	(3/261)	M: 100 mg/kg/day ... M: 400 mg/kg/day ... M: 250 mg/kg/day ...			
NOEL/LOEL	(3/6)	M: 6 mg/kg/day ... M: 25 mg/kg/day ... M: 31 mg/kg/day ...			
Organ Weights	(1/56)	M: 25 mg/kg/day ...			

Metabolism profiling...

what to add
sub-tree
whole map(w/o parent)

Cell Height: 146, Cell Width: 146

Reference: Kaye, C., Biochem. J., 134(4), (1973). (in vivo), pp. 1093 - 1101

Search target
search as fragment
extended search...
Flexible search...
Trans flex search...

代謝

Study Link ID: 318<91>

Test Result | Flag Summary | Test

Test Item	mg/kg	mean	SD	S...	F1	F3
BUN	10	16.2	0.6			
CRN	10	14.3	0.4	*		
T-CHO	10	0.77	0.02			
TG	10	0.70	0.00	**		
PL	10	0.74	0.02			
T-BIL	10	0.71	0.01	*		
GLUC	10	0.71	0.01	*		
A/G	10	0.71	0.01	*		
Protein %	10	0.71	0.01	*		
ALT(GPT)	10	88	3			
ALP	10	626	16			
LDH	10	70	1			

用量反応を含む
毒性試験データ

Summary of Mechanism

Allyl alcohol is a reactive metabolite that can cause cellular effects in the liver (Ghildyal et al., 1985; Ohno et al., 1985; Silva and O'Brien, 1989; Watanabe et al., 1992). Acrolein is a reactive metabolite that can cause cellular effects in the liver (Ghildyal et al., 1985; Ohno et al., 1985; Silva and O'Brien, 1989; Watanabe et al., 1992). Acrolein is also capable of reacting with sulfhydryl groups of macromolecules nonenzymatically via a Michael addition. Reaction with critical intracellular sulfhydryl groups is proposed as one component of the cytotoxicity of acrolein (Cooper et al., 1992; Kehrer and Biswal, 2000). Oxidative stress subsequent to the loss of GSH may be associated with mitochondrial dysfunction (Watanabe et al., 1992; Arumugam et al., 1999). Direct action of acrolein on mitochondria is possible (Sun et al., 2006), but seems unlikely at low doses due to the presence of abundant cellular GSH. The mechanism of bile duct hyperplasia induced by allyl acetate and allyl alcohol is less well understood.

Liver

Allyl acetate
Allyl alcohol
Acrolein
GSH adduct formation
GSH depletion / Oxidative stress
Mitochondrial dysfunction
Microtubular adduct formation
Hepatocyte injury

作用機序/
有害性発現経路

Figure 1. Hepatotoxic pathway induced by allyl acetate.

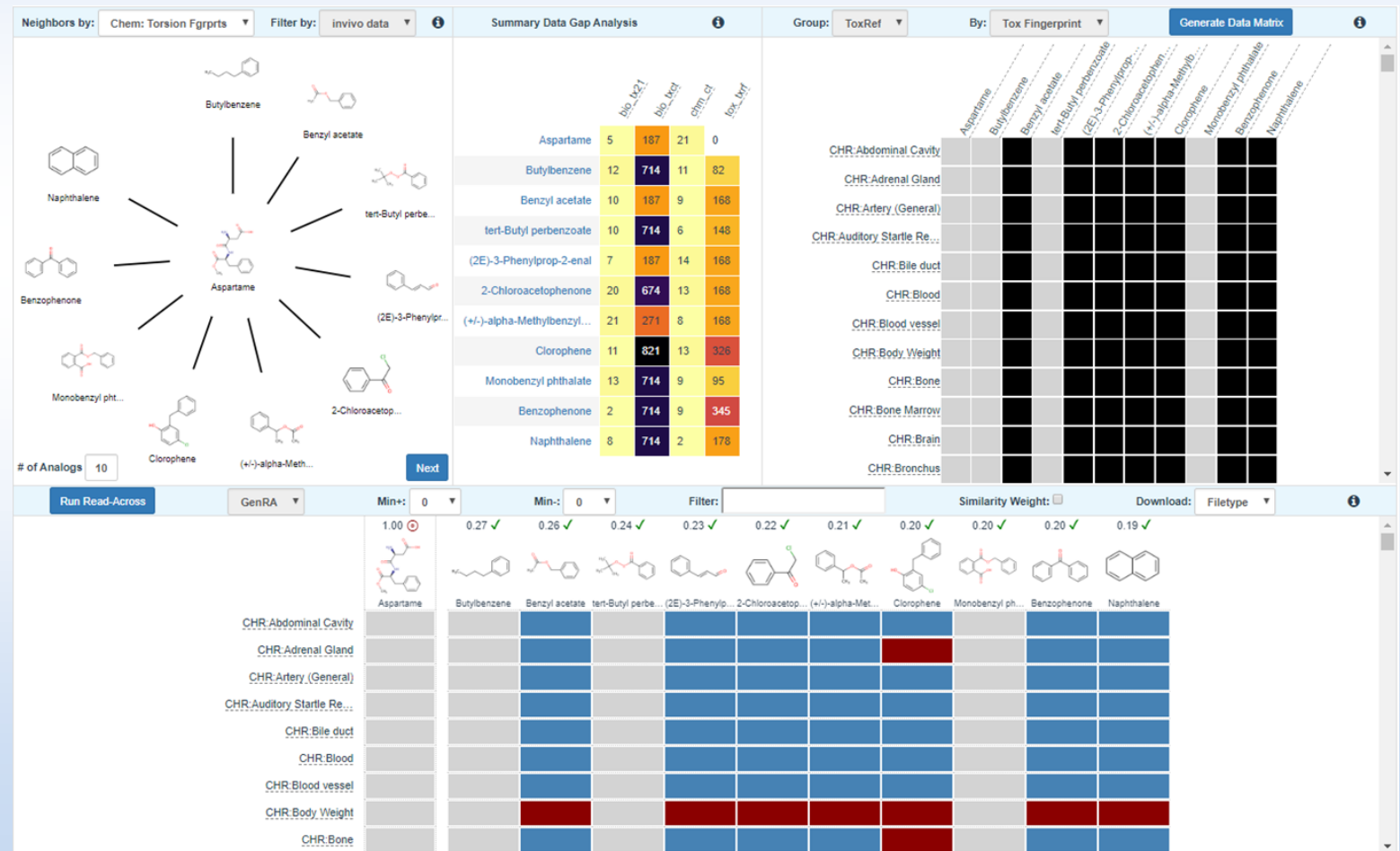
支援ツール(3): Generalized Read-Across (GenRA)

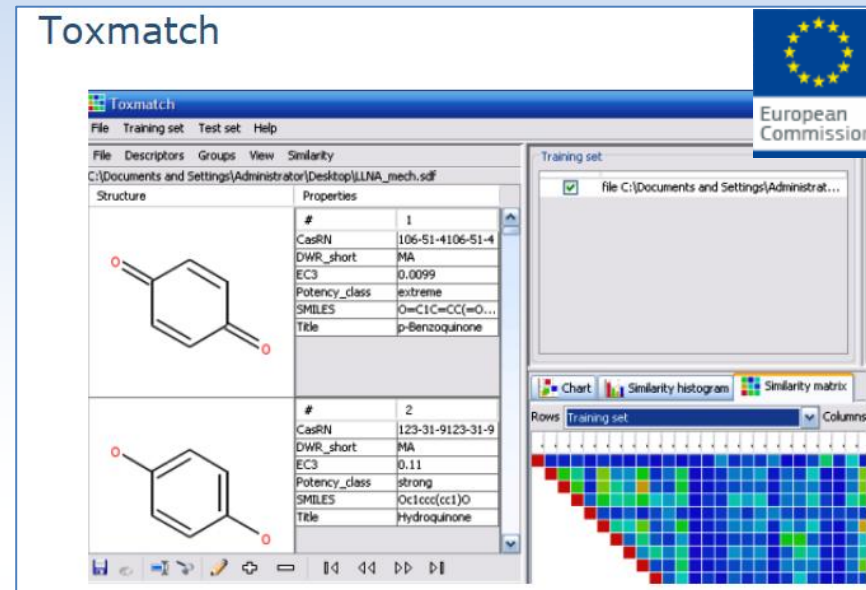
- 米国環境保護庁が開発したWebアプリケーション
- 化学構造や生物活性などの観点から、自動的に類似物質を検索して表示



再現性のあるリード
アクロスの毒性予測
を行うためのアルゴ
リズムによる自動化
されたアプローチ

<https://www.epa.gov/chemical-research/generalized-read-across-genra>



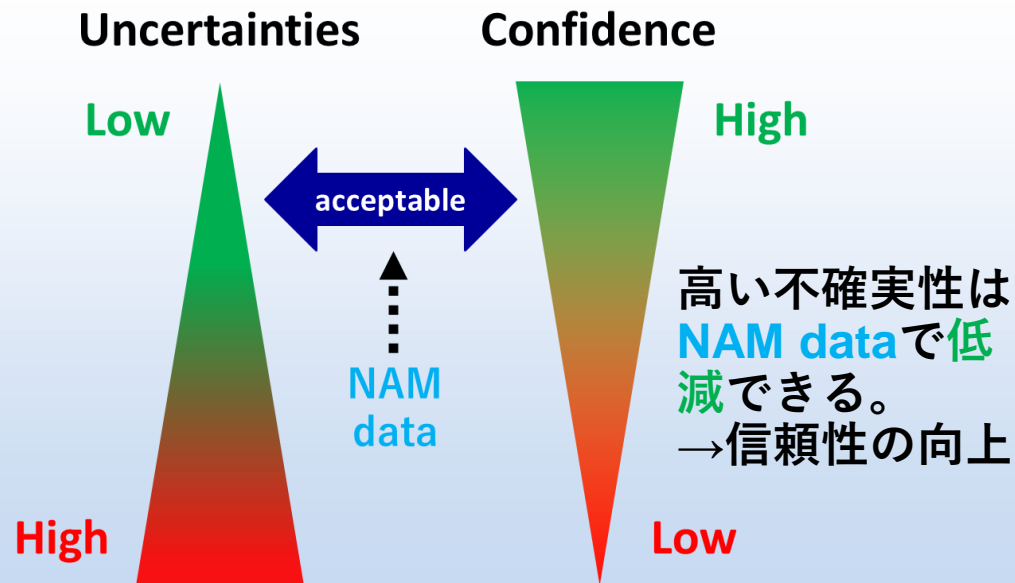
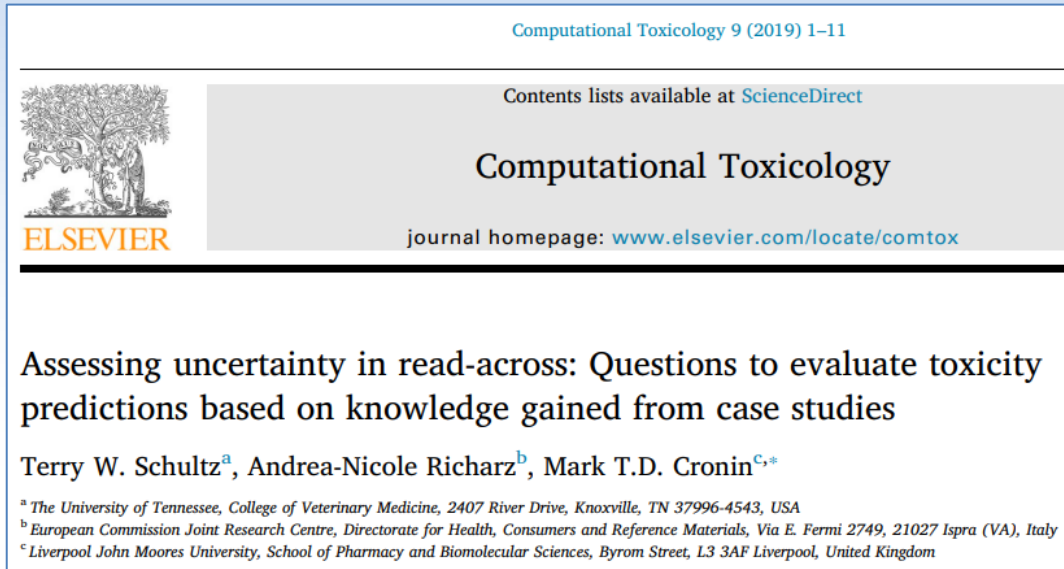


56

- 不確実性：評価の質問に対する可能な回答の範囲と確率に影響を与える、利用可能な知識のあらゆる種類の制限... (EFSA, 2018*)
- 化学物質リスク評価における不確実性は、評価の厳密性や正確性を低下させる。
- リードアクロスのそれぞれのステップに一定の不確実性がある。

- ◆ リードアクロスの不確実性評価
 - ✓ リードアクロスの堅牢性と総合的な信頼性を判断する材料となる。
 - ✓ また、不確実性の要因の中には、追加情報を収集すれば解決するものがある可能性がある、それを明らかにし対処すれば、不確実性を低減できる。
 - ✓ さらに、リードアクロスによる予測結果が特定の規制目的に許容できるかどうかの一つの指標となる。

- したがって不確実性評価は、リードアクロスを正当化し、その結果の行政的受け入れを判断するために極めて重要である。



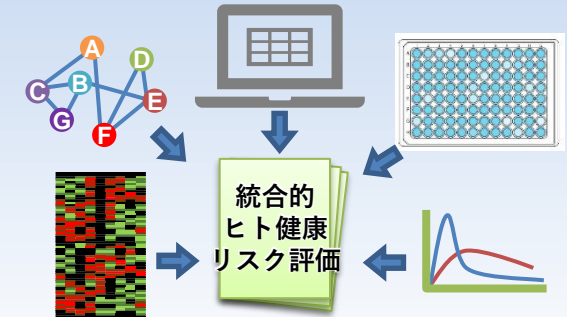
■ 不確実性を決定する主要要素

1. リードアクロスの規制上の使用目的：
 - i. これとリードアクロスで推定するエンドポイントとの関連性により、不確実性の許容水準が決定される。
2. 参照する試験データの質：
 - i. データギャップを埋めるためには、十分な質や関連性がなければならない。
3. リードアクロスの論拠に関する不確実性：
 - i. 毒性に至るメカニズムの妥当性
 - ii. 裏付けとなる証拠の完全性
 - iii. 裏付けとなるデータの信頼性
 - iv. 証拠の重み付け（Weight-of-Evidence）が考慮される必要がある。
4. リードアクロスの正当化、特に類似性の仮説の正当化
 - i. 評価対象物質と参照物質の間の様々な観点からの類似性についての議論が不確実性を低減する。
 - ii. 特に複雑な毒性エンドポイントを対象とする場合、不確実性を低減するためには、NAMを適切に選択し活用することは必須である。

リードアクロスの信頼性向上のためのNAMsの導入検討

New Approach Methodologies (NAMs) :

化学物質のハザードとリスク評価に関する情報を提供し、動物の使用を避けることができるあらゆる技術、方法論、アプローチ、またはその組み合わせと定義され、*in silico*, *in chemico*, *in vitro* アプローチを含む (US EPA 2018; ECHA 2016)。



海外リスク評価機関や規制当局は、新しい動物試験要求を最小限に抑え、NAMs活用を促進するロードマップを近年相次いで公表している。これらの戦略に基づき、研究開発が一層促進されると予想される。

現段階ではすべてのケースに適切な単一のアプローチはなく、ケース毎に専門家による適格性の確認が必要である。 活用事例を増やしながら、NAMsがいかにリードアクロスの信頼性を向上させることができるかを検証していくことが求められている。

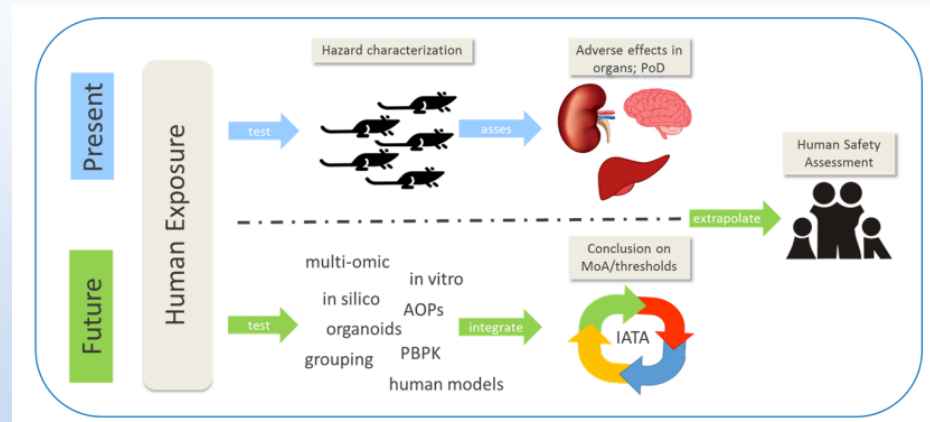
APPROVED: 2 May 2022
doi:10.2903/sp.efsa.2022.EN-7341



Development of a Roadmap for Action on New Approach Methodologies in Risk Assessment

Sylvia E. Escher¹, Falko Partosch¹, Sebastian Konzok¹, Paul Jennings², Mirjam Luijten³, Anne Kienhuis³, Victoria de Leeuw³, Rosmarie Reuss⁴, Katrina-Magdalena Lindemann⁴, Susanne Hougaard Bennekou⁵

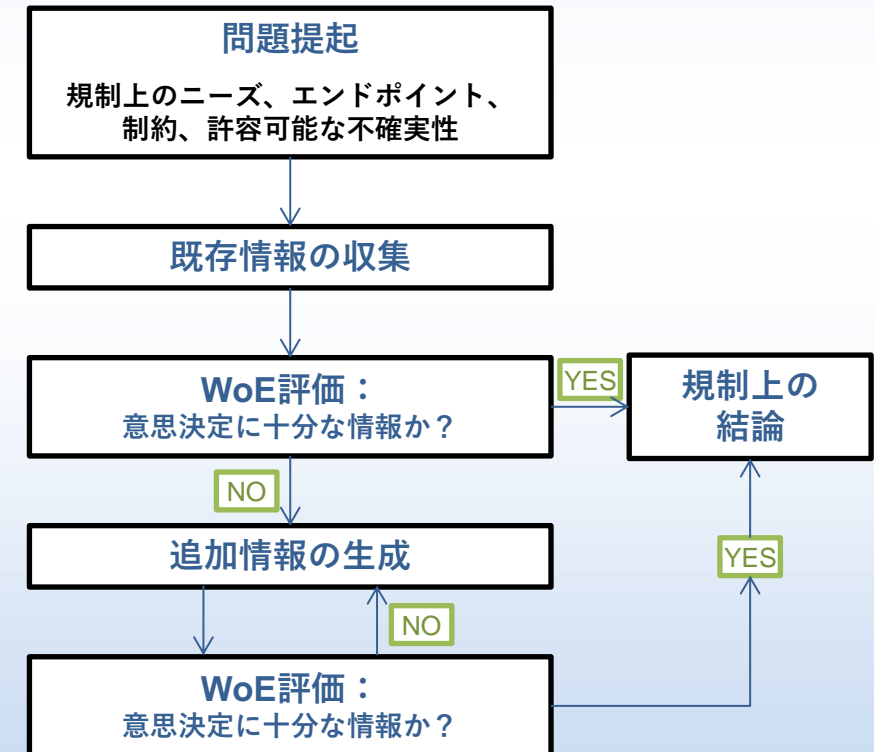
¹ Fraunhofer ITEM, ² Vrije Universiteit Amsterdam, ³ National Institute for Public Health and the Environment, ⁴ Eura AG, ⁵ The National Food Institute Denmark



リードアクロスの使用経験の共有と信頼性向上へ向けた実践

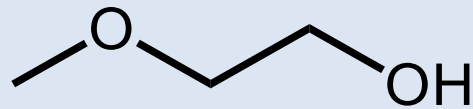
- OECD IATA ケーススタディプロジェクト -

- IATA (Integrated Approaches to Testing and Assessment, 試験と評価のための統合的アプローチ)
 - ✓ *In silico, in chemico, in vitro*, 既存の*in vivo*データ等を組み合わせて統合的に評価
 - ✓ リードアクロスはIATAに内包されうる
- 規制用途に適した予測事例を開発してIATAの使用経験を共有する場を提供
- ケーススタディから得られる考慮事項を抽出・整理し、ガイダンスを作成
- ケーススタディは、リードアクロスの長所と限界を理解するために不可欠であり、作成者および評価者の経験値を高めるのに役立つ教育機会として有用



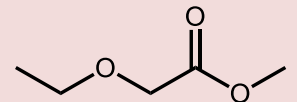
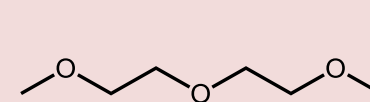
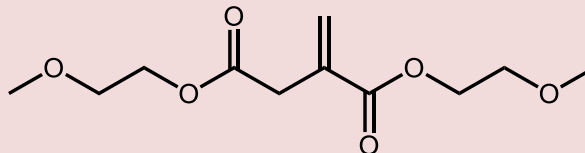
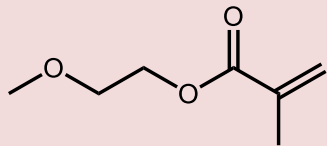
- 事例研究の目的：化学物質審査規制法を想定し、エチレングリコールメチルエーテル（EGME）関連物質の精巣毒性を、スクリーニングレベルで評価する。
 - EGMEとその関連化学物質の毒性データを用いて、未評価の対象物質の毒性をリードアクロスにより予測。NOAEL値を推定し、有害性クラス分類を行う。
 - EGMEについて：
 - ✓ 主要な毒性として精巣毒性および発生毒性がよく研究されている。
 - ✓ 高懸念物質（Substance of Very High Concern, SVHC）
 - ✓ 日本では年間約5000トンを製造（2018年）。欧米では代替が進んでいる。

参照物質

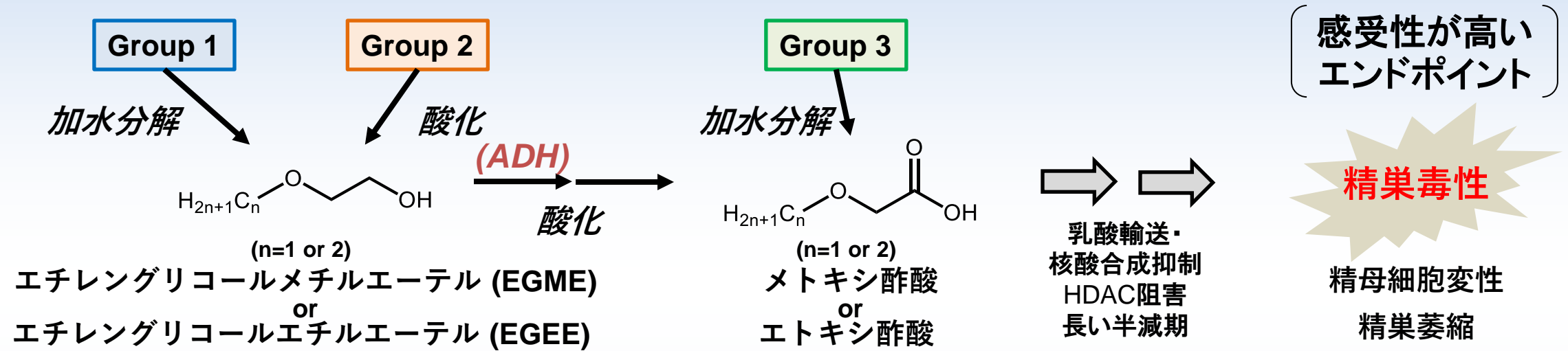


エチレングリコールメチルエーテル (EGME)
CAS No. 109-86-4

標的物質



■ 類似性の仮説

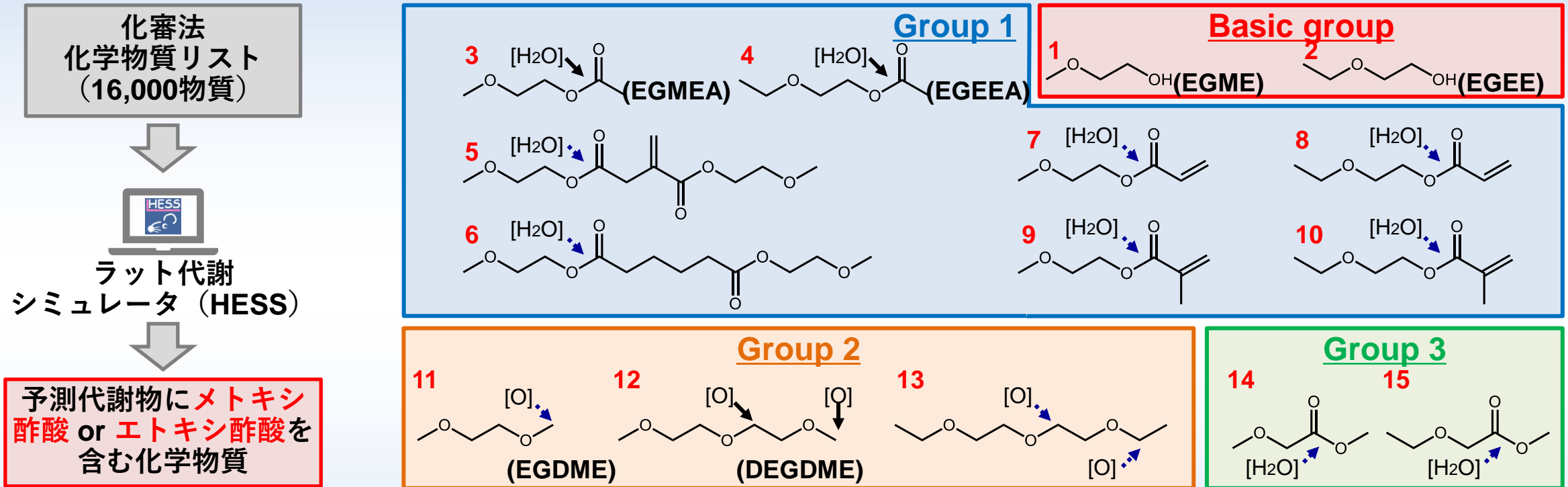


■ 根拠となる、作用機序に関する情報

- EGME 暴露 → 精母細胞変性・壊死↑ (rat)
- 主要な代謝: EGME → → メトキシ酢酸 (rat)
- EGME + ADH阻害剤 → メトキシ酢酸↓、精巣毒性↓ (rat)
- メトキシ酢酸 暴露 → 精母細胞変性・壊死↑ (rat)
- メトキシ酢酸 / エトキシ酢酸 → 細胞毒性 (in vitro (rat, human))
- 毒性の強さ: メトキシ酢酸 > エトキシ酢酸

代謝を介してメトキシ酢酸、エトキシ酢酸を生成する物質群を類似物質として定義した。

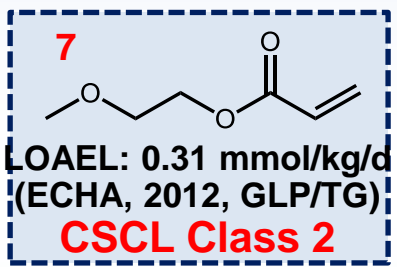
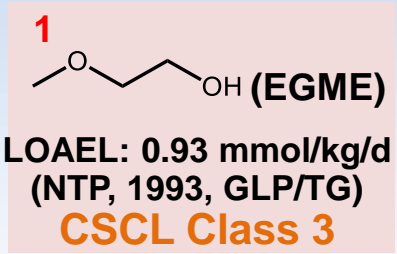
■ 代謝予測により、EGMEに類似の標的物質を探索



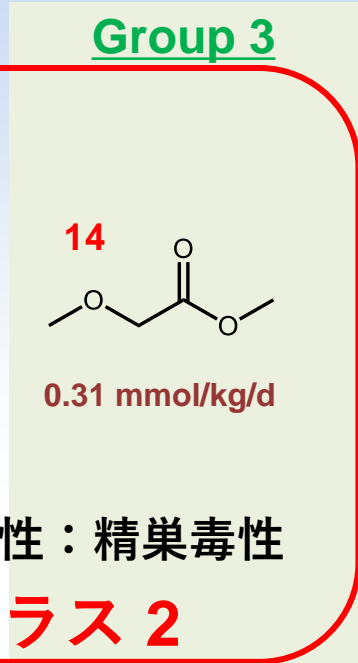
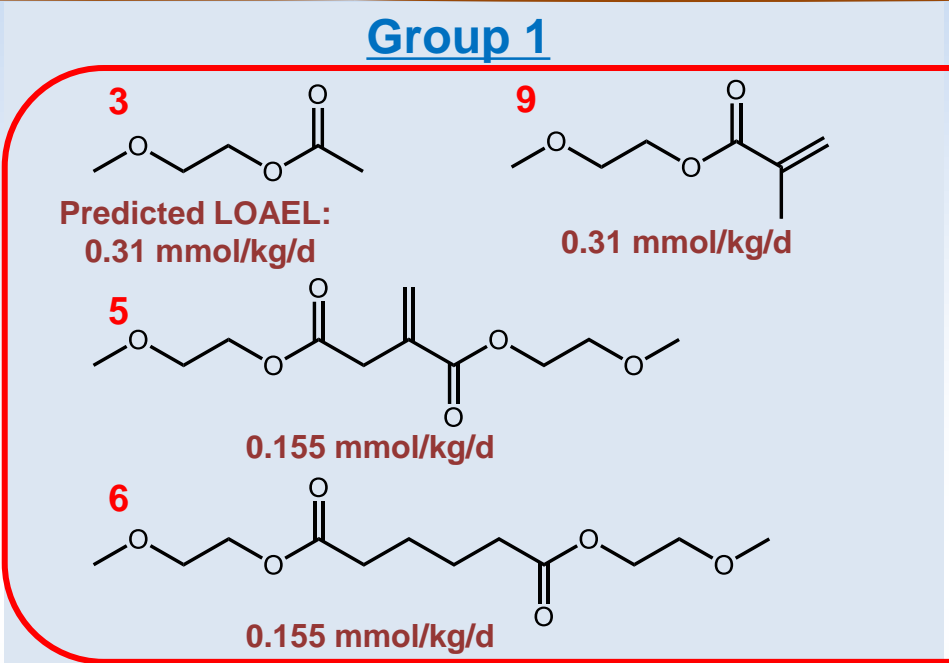
■ 代謝予測の不確実性とその対処

- 代謝シミュレータは代謝物候補を幅広く提示。そのケミカルスペース情報は与えられていない。
- 一部の類似物質の実測代謝データをシミュレータが正しく予測できるか、局所的な予測性能を確認し、専門家判断によって代謝予測の妥当性を評価した。

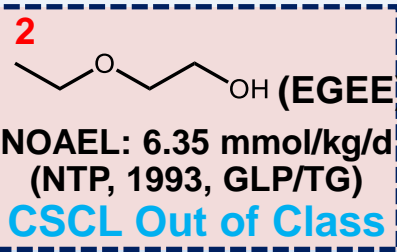
リードアクロスによる毒性エンドポイントの予測



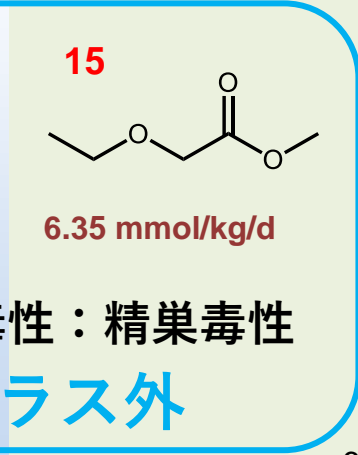
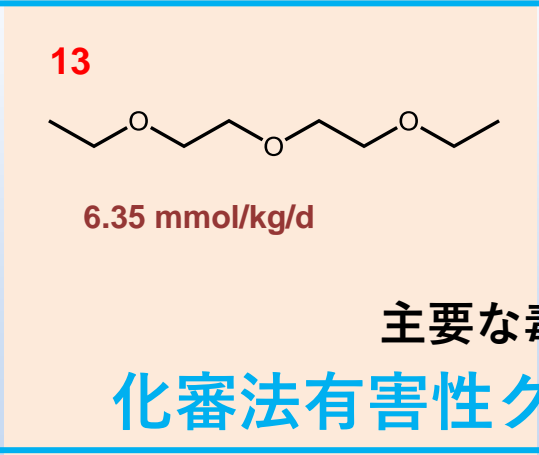
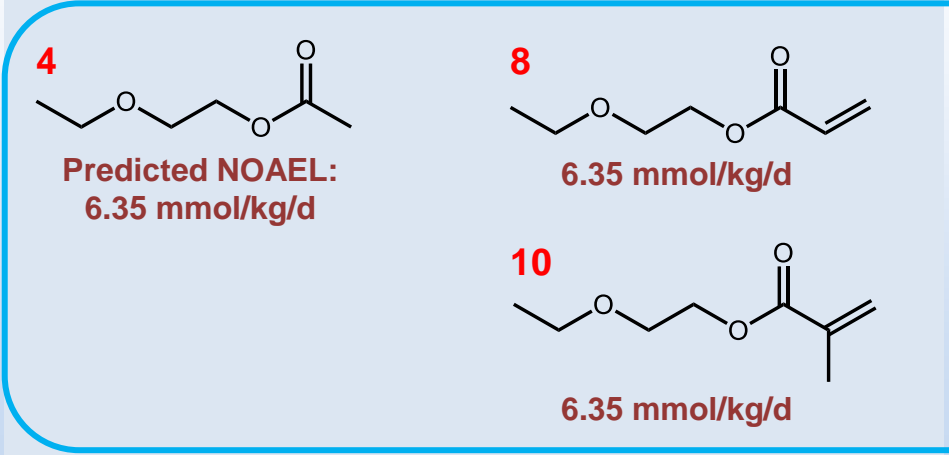
リード
アクロス
➔



主要な毒性：精巣毒性
化審法有害性クラス 2
(優先評価化学物質に指定される可能性あり)



リード
アクロス
➔

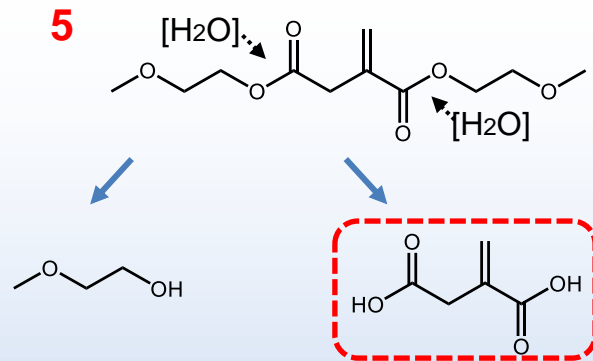


主要な毒性：精巣毒性
化審法有害性クラス外

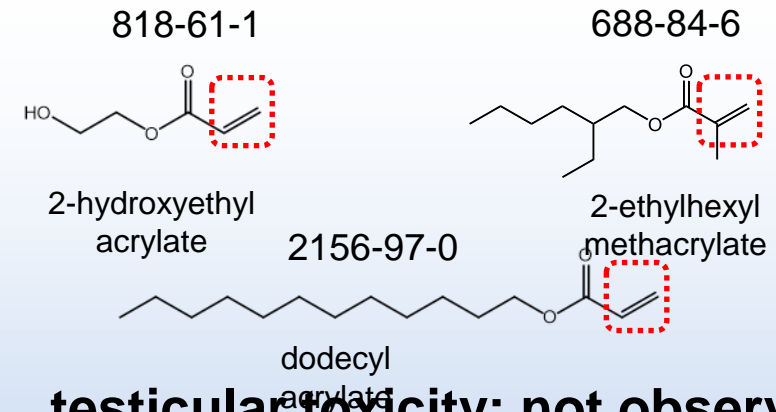
本事例研究特有の不確実性の同定と サポートエビデンスによる不確実性の低減

■ 10カ国の専門家、100以上のコメントに対応し、種々の不確実性を低減

- 親物質から生成する**他の代謝物**には結論に影響を及ぼす毒性がないか。
- データベースにて、これらの代謝物に、結論に修正が必要なレベルの生殖器官毒性を示す代謝物は存在しないことを確認した。(not observed / very weak)



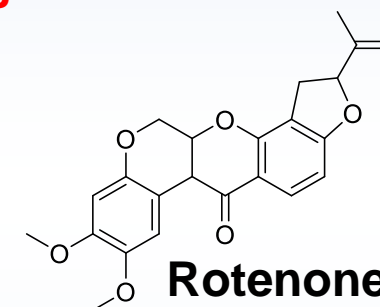
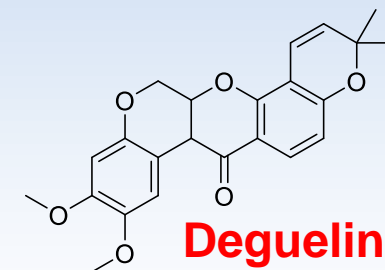
- 一部の対象物質に含まれる **α,β 不飽和結合**は本件と異なるメカニズムで毒性が知られる。影響を及ぼす可能性はないか。
- データベースにて、同様の結合をもつ物質は、他臓器（肝臓、腎臓、脾臓）に中～弱毒性を示すが、生殖器官毒性を示さないことから、この可能性は低いと結論付けた。



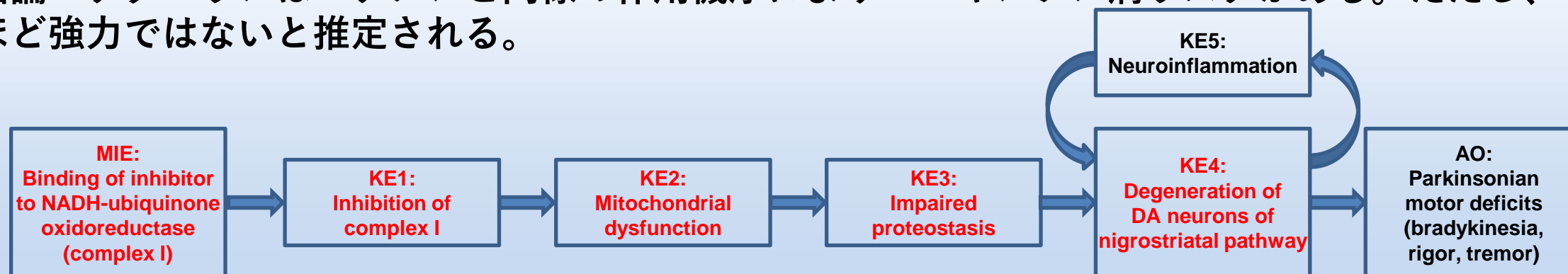
- OECDで承認（2019）。ガイダンス作成へ向けたKey considerationsの抽出に貢献
- その後、米国およびEUのリードアクロスプロジェクトでも取り上げられた。

CS2019-7: AOPに基づく *in vitro* 試験とリードアクロスによるデグエリンのパーキンソン病リスクの評価

- 標的物質：デグエリン（ミトコンドリア複合体I阻害剤）
- 参照物質：ロテノン
- 構造的に関連するロテノンを参照物質として、AOPアプローチを適用し、安全性評価全体にわたるリードアクロスを実施。
- AOPは、OECDに登録、公開されている。
(No. 7、2018、doi: 10.1787/b46c3c00-en)
- 構造モデリングアプローチ：標的タンパク質との結合（MIEに対応）
- ヒト *in vitro* 試験系：各AOPイベントに対応
- 体内動態評価、PBPKモデリング：*in vivo* 曝露の推定



- 結論：デグエリンはロテノンと同様の作用機序によりパーキンソン病リスクがある。ただし、それほど強力ではないと推定される。



■ リードアクロス

- リードアクロスについて
- リードアクロスの実際
- 行政受け入れ促進へ向けた近年の研究開発の動向
 - 実施手順の整備
 - 支援ツールの紹介
 - 不確実性の評価
 - 事例研究
- **今後の展望**

■ まとめ

医薬部外品：新規評価手法の行政利用へ向けた課題整理



- AMED医薬品等規制調和・評価研究事業 医薬部外品の全身毒性に対する代替法開発 (R4-R6)
 - 化粧品・医薬部外品の代替法（リードアクロス）、次世代リスク評価（NGRA）
 - ケーススタディに基づく議論により考慮事項や課題を抽出



事例作成者
(企業/工業会)

・ 医薬部外品評価結果の行政受入に向けた信頼性確立に必要なことを明確化する。規制側の考え方への理解を深める。



規制機関

・ 新手法への理解を深める。将来へ向けて準備を進めていくべきことを明確化する。準備すべき専門性、移行のステップを検討する。



有害性評価
および
代替法専門家

・ 基礎情報や課題の取りまとめ、ガイダンス作成へ向けて論点を整理する。業界の考え方への理解を深め、新手法の科学的妥当性を検討。

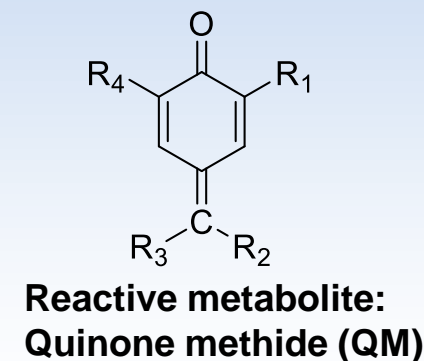
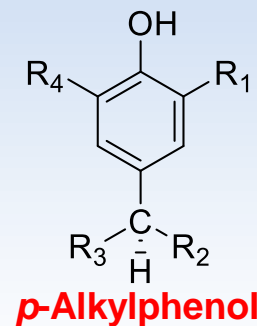
立場の違いによる知識、認識のギャップを同定して埋め合わせていく



海外専門家を招待した拡大会議(2024年12月, 国衛研)

Case Study 1: Overview and major discussion points

- **Target substances:** 2 p-alkylphenols
- **Analogues:** 4 p-alkylphenols
- **Endpoint:** Rat 90-d oral repeated dose toxicity
- **Toxic mechanism:** Hepatotoxicity by Quinone methide (reactive metabolite)



考察

■ 類似性:

- 構造類似性は指標の一つとなり得るが、詳細な値の差はそれほど重要ではない。
- 全体的な構造類似性よりも、特定の部分構造が重要。

■ 毒性メカニズム:

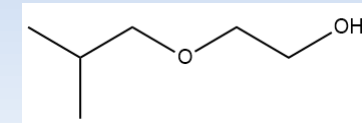
- 毒性プロファイル（例：他の臓器）は、QM生成物質間でも異なる。上記のメカニズムが優勢であることを示す根拠が必要である。
- 他の臓器における毒性メカニズムの証拠があれば、不確実性を軽減し、結論を精緻化することができる。
- 他の臓器における毒性については、慎重な検討が必要である。（規制当局）

■ リードアクロス、データギャップ補完:

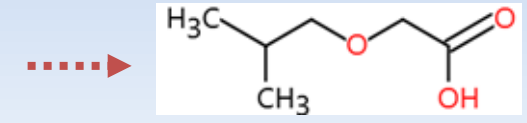
- 類似物質の類似性と、それらの試験データの質／量の両方が重要である。不十分な場合は、追加の類似物質を検討すること。

Case Study 2: Overview and major discussion points

- **Target substance:** 2-Isobutoxyethanol
- **Analogues:** 9 substances with structural similarity >85% and animal test data
- **Endpoint:** Developmental effects by oral uptake
- **Toxic mechanism:** Assumed mainly due to the retention of alcoxyacetic acids (reactive metabolite)



2-Isobutoxyethanol



Putative reactive metabolite:
2-Isobutoxyacetic acid

Analogues:
short monoethylene
glycols *etc.*

Reactive metabolite:
Alcoxyacetic acids

議論

■ 評価の範囲と目的:

- 動物実験の代替として、2種試験が必須であるため、動物種ごとにRAxを実施する必要がある。（種を特定しない一般的な結論も、裏付け情報として受け入れることができる。）

■ 毒性評価:

- 異なる投与経路を用いたデータを参照するためには、代謝率、初回通過効果、および生物学的利用能の検証を考慮する必要がある。

■ 類似物質の選択と推定毒性メカニズム:

- 2-メトキシエタノールは、推定メカニズムで言及されているため、類似体を含める必要がある。
- In vitro試験によって定量的に裏付けられることを期待する。

■ データギャップの補完等:

- 追加の定量的証拠があれば、保守的なアプローチではなく、科学的妥当性に基づいたより洗練された結論が受け入れられる可能性がある。

プロジェクトの成果と今後の課題

■ 得られた成果または知見

- メカニズムを裏付ける *in vitro* システムの有用性が認識された。
- non-TG の方法を使用する場合は陽性対照／陰性対照を含める必要がある。

■ プロジェクトが提供したもの...

- 従来の動物実験から次世代の代替法への移行を可能にする人的ネットワークを構築できた。
- それぞれの視点からのバランスの取れた議論により、問題点を明確にすることができた。
- このプロジェクトは最初の一步。今後、さらに深い議論を続けていく必要がある。

■ 今後の課題と展望

- 特に、毒性のない物質や類似物質のない物質など、扱いが難しい物質については、より多くの知見と経験が必要。
- 重要な課題の一つは、専門家の教育と採用方法。教育と研修は、実際の規制現場で並行して行われることが望ましい。
- まずは曝露量の少ない物質から始め、慎重に適用範囲を拡大する。
- 再現性を確保し、個人差を避けるにはどうすればよいか？コンピュータシステムを構築するには？

■ NAMの信頼性の確立

- *In vitro* NAM：非ガイドライン試験に対する国際的なガイダンス*に沿うことで、一定の信頼性が確保できると考えられる。
- *In silico* NAM：(Q)SARの行政利用のためのガイダンスであるOECD (Q)SAR Assessment Framework**が信頼性を確保する手段として有効と考えられる。

■ 行政利用のスキーム構築へ向けた議論

- リードアクロスの開発者、リードアクロスの実施者やリスク評価を行う行政など様々な専門の関係者による立場を超えた議論
- 事例を多角的に議論し知見を蓄積することで、リードアクロスへの理解を深め、有用性や、行政受け入れに向けた課題とその解決の方向性などを整理し、共有することが必要

■ 各規制に適応した実践的なガイダンスの作成と専門的評価体制の整備

- 汎用的なガイダンスの作成（OECD Grouping Guidance: 2025年公開）
- 各国の個々の規制に即した個別の実践的なガイダンスの作成（EFSA (2025年公開)、他）
- 専門的かつ技術の進歩を反映した柔軟な評価体制への移行と整備

*OECD; Guidance Document for Describing Non- Guideline In Vitro Test Methods (2014). <https://doi.org/10.1787/9789264274730-en>

**OECD; (Q)SAR Assessment Framework: Guidance for the regulatory assessment of (Quantitative) Structure – Activity Relationship models, predictions, and results based on multiple predictions. (2023). [https://one.oecd.org/document/ENV/CBC/MONO\(2023\)32/en/pdf](https://one.oecd.org/document/ENV/CBC/MONO(2023)32/en/pdf)

■ リードアクロス

- リードアクロスについて
- リードアクロスの実際
- 行政受け入れ促進へ向けた近年の研究開発の動向
 - 実施手順の整備
 - 支援ツールの紹介
 - 不確実性の評価
 - 事例研究
- 今後の展望

■ まとめ

■ 目的の明確化、適切なin silico手法の選択

- 評価対象物質（化学物質、医薬品不純物、農薬代謝物...）
- 優先順位付け、スクリーニング評価、リスク評価...
- 毒性エンドポイント（変異原性、皮膚感作性、反復投与毒性、生殖発生毒性...）

■ 予測結果の信頼性の向上

- 個々のツールの特徴や限界があるので複数のツールを活用する
- (Q)SAR：類似物質を用いて局所的な予測性能を検証する
- リードアクロス：構造に加えて代謝/キネティクス、作用機序に基づく類似性を考慮する

■ データベース/ツールの使いやすさの向上・再現性の確保

- データベースへのアクセス、連携、統合
- 知識を集約し、再現性のある結論を導ける判断支援システム

ご清聴ありがとうございました

参考

(Q)SAR Assessment Framework: Guidance for the regulatory assessment of (Quantitative) Structure Activity Relationship models and predictions, Second Edition

Report

More info ⓘ

OECD Series on Testing and Assessment • 15 November 2024

https://www.oecd.org/en/publications/q-sar-assessment-framework-guidance-for-the-regulatory-assessment-of-quantitative-structure-activity-relationship-models-and-predictions-second-edition_bbdac345-en.html

Summary

Support materials

Download PDF

Cite this publication

Abstract

Related publications

Related topics

Abstract

The aim of the OECD (Quantitative) Structure-Activity Relationship ((Q)SAR) Assessment Framework (QAF) is to provide a systematic and harmonised framework for the regulatory assessment of (Q)SAR models, predictions and results based on multiple predictions. The QAF is meant to be applicable (Q)SARs, irrespective of the modelling technique used to build the model, the predicted endpoint, and the intended regulatory purpose. The updated second edition includes a reporting format for (Q)SAR results that rely on multiple predictions. The (Q)SAR Result Reporting Format (QRRF) was created to address an identified gap in the first edition of the QAF and is designed to increase confidence in using (Q)SAR results for regulatory application. The primary audience of this document is regulatory authorities and their stakeholders. In addition, any other (Q)SAR user is encouraged to refer to the QAF when using (Q)SARs for regulatory purposes.



OECD (Q)SAR Assessment Framework (Q)SAR評価の枠組み：定量的構造活性相関モデル、予測および複数の予測から導かれる結果の 規制評価のためのガイダンス 第2版（翻訳版）

- ▶ [OECD \(Q\)SAR Assessment Framework \(Q\)SAR評価の枠組み：定量的構造活性相関モデル、予測および複数の予測から導かれる結果の 規制評価のためのガイダンス 第2版（翻訳版）](#)
- ▶ [\(Q\)SARのモデルチェックリスト、予測チェックリストおよび結果チェックリスト（翻訳版）](#)

本資料は、OECDによる、試験の実施と評価に関するOECDシリーズ No. 405 「(Q)SAR Assessment Framework: Guidance for the regulatory assessment of (Quantitative) Structure Activity Relationship models and predictions」 第2版の翻訳版として、OECDの承諾のもと、以下のメンバーにより作成された。

— JaCVAM in silico毒性学資料編纂委員会委員名簿

- ▶ 山田 隆志（委員長）
- ▶ 赤堀 有美
- ▶ 小野 敦
- ▶ 栗原 正明
- ▶ 中野 賢司
- ▶ 額田 祐子

— JaCVAM in silico毒性学資料編纂委員会事務局名簿

- ▶ 小島 肇
- ▶ 足利 太可雄
- ▶ 大野 彰子
- ▶ 吉川 環
- ▶ 丸山（薦田）多恵子

<https://www.jacvam.go.jp/sar.html>

コミュニケーション／毒性学トピックス解説

OECD (Q)SAR評価フレームワーク (QAF) ガイダンス

化学物質の安全性評価において、動物実験の代替法が国際的に注目されています。規制当局が代替法を受け入れるには、科学的妥当性を考慮する原則が必要です。(Q)SAR ((Quantitative) Structure Activity Relationship) は、このような代替法の一つであり、化学物質の構造と生物学的活性の関係をモデル化し、未知の化学物質の活性を予測する方法です。OECD (Q)SAR評価フレームワーク(QAF)ガイダンスは、(Q)SARモデルとモデルによる予測結果を考慮する際の規制当局向けガイダンスです^{1,2)}。

(Q)SARを規制当局における安全性評価で活用するためには、モデルの科学的妥当性と性能を検証する必要があります。OECDは2004年に「(Q)SARモデル5原則」³⁾を、続いて2007年に「(Q)SARモデルの検証に関するガイダンス」⁴⁾を発表し、以降、(Q)SARはICH-M7ガイドラインにおける医薬品不純物の変異原性評価⁵⁾、OECDの皮膚感作性試験のDefined Approachに関するガイドライン⁶⁾に基づく評価、欧州のREACH規則⁷⁾における評価など、様々な規制に適用されてきました。しかし、同ガイダンスに基づいて検証された(Q)SARモデルでも、条件によっては受け入れられない予測結果が生成されることがわかってきました。そのため、規制当局において(Q)SARを使用する際は、モデルの検証だけでなく、得られた予測結果も評価する必要があります。OECDは2023年にQAFガイダンスを公開し¹⁾、「(Q)SARモデル、予測結果、および複数の予測から導かれる結果を、規制における安全性評価で活用するための汎用的な評価フレームワーク」を提供しています。

QAFガイダンスにおけるモデルの評価はOECD (Q)SARモデル5原則に基づいています。さらに、規制の現場で専門家が(Q)SARの予測結果を評価してきた長年の経験から、QAFガイダンスでは新しく、OECD (Q)SAR予測4原則（モデルへの入力正しいこと、モデルが適用範囲内にあること、信頼できる予測であること、規制目的に適した出力であること）を確立しました。これらの原則に基づいて(Q)SARを効率的に評価するため、各原則をさらにいくつかの評価要素に分割しています。

評価は3つのチェックリスト（モデルチェックリスト、予測チェックリスト、結果チェックリスト）を使用して行われます。モデルチェックリストは、(Q)SARモデル5原則に従っ



- 中川翔太, 額田祐子, 齋藤和智, 久木友花, 関根秀一, 田村亜紀子, 小野敦, 栞形麻樹子, 廣田衛彦, 豊田明美, 畑尾正人, 高橋祐次, 足利太可雄, 山田隆志. 医薬部外品申請における**NGRA**の活用に向けた事例研究～リードアクロスによる**p-アルキルフェノール**類の反復投与毒性予測～. 日本化粧品学会誌, 2025, in press
- 久木友花, 関根秀一, 田村亜紀子, 中川翔太, 額田祐子, 齋藤和智, 小野敦, 栞形麻樹子, 廣田衛彦, 豊田明美, 畑尾正人, 高橋祐次, 足利太可雄, 山田隆志. 医薬部外品申請における**NGRA (Next Generation Risk Assessment)**の活用に向けた事例研究～リードアクロスによる**2-Isobutoxyethanol**の発生毒性予測～. 日本化粧品学会誌, 2025, in press

Guidance on Grouping of Chemicals, Third Edition

Report

More info ⓘ

https://www.oecd.org/en/publications/guidance-on-grouping-of-chemicals-third-edition_b254a158-en.html

[OECD Series on Testing and Assessment](#) • 18 December 2025

[Download PDF](#)[Cite this publication](#)[Abstract](#)[Related publications](#)[Related topics](#)

Abstract

The OECD Guidance on Grouping of Chemicals describes approaches to consider closely related chemicals as a group rather than individually and apply read-across approaches for filling data gaps. The first edition was published in 2007 and the second edition was published in 2014. This third edition incorporates New Approach Methodologies (NAMs) such as adverse outcome pathways (AOPs), omics technologies, high-throughput screening and (Q)SAR models for developing groups and substantiating similarity. The guidance outlines how to establish the scientific basis for read-across approaches to fill data gaps, integrates insights gained from the OECD IATA Case Study Project and describes new methods to quantify read-across performance and uncertainties. This edition expands coverage of mechanistic-based approaches and includes guidance for metals and nanomaterials grouping. The document provides critical guidance for assessing the hazards of chemicals using approaches that gain efficiencies and reduce reliance on animal testing.

Guidance on the use of read-across for chemical safety assessment in food and feed

EFSA Scientific Committee | Susanne Hougaard Bennekou | Ana Allende | Angela Bearth | Josep Casacuberta | Laurence Castle | Tamara Coja | Amélie Crépet | Thorhallur Halldorsson | Laurentius (Ron) Hoogenboom | Pikka Jokelainen | Helle Knutsen | Konstantinos Koutsoumanis (until 25 February 2025)[†] | Claude Lambré | Søren Nielsen | Dominique Turck | Antonio Vicent Civera | Roberto Edoardo Villa | Holger Zorn | Emilio Benfenati | Romualdo Benigni | Qasim Chaudhry | Lucian Farcas | George Kass | Alexis Nathanail | Alicia Paini | Rositsa Serafimova

Correspondence: mese@efsa.europa.eu

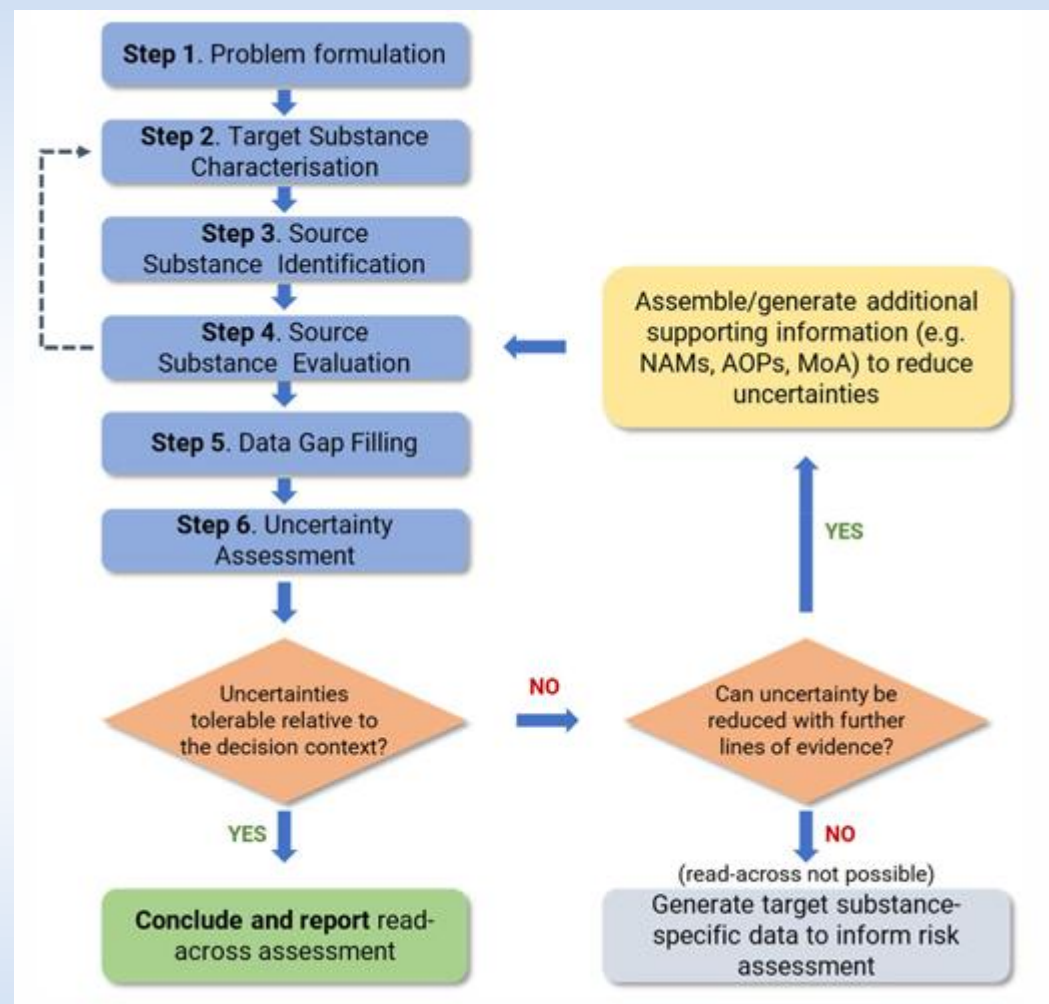
The declarations of interest of all scientific experts active in EFSA's work are available at <https://open.efsa.europa.eu/experts>

Abstract

Read-across is a method used in chemical risk assessment to predict the toxicological properties of a target substance by using data from structurally and mechanistically similar substances, known as source substances. EFSA's Scientific Committee has developed an approach for using read-across in food and feed risk assessment. This method provides a step-by-step guide to applying read-across as part of a weight-of-evidence evaluation for individual substances. It includes an explanation of the key aspects to consider at each step of the read-across workflow, i.e. problem formulation, target substance characterisation, source substance identification, source substance evaluation, data gap filling, uncertainty assessment, conclusion and reporting. It highlights the importance of clarity, impartiality and quality to derive transparent and reliable read-across conclusions. A particular emphasis is placed on the analysis of uncertainty and whether the overall uncertainty can be lowered to tolerable levels by using standardised approaches, and/or additional data from new approach methodologies (NAMs). The guidance outlines methods to integrate data from NAMs to support read-across in the relevant steps, improving the robustness of the assessment. The ultimate goal is to equip risk assessors and applicants with a comprehensive framework to carry out read-across assessments systematically and transparently, thereby supporting the safety evaluation of chemicals in the food and feed chain.

KEYWORDS

data gaps, Food and feed safety, new approach methodologies (NAMs), read-across, risk assessment, target and source substances, uncertainty



<https://efsa.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.2903/j.efsa.2025.9586>