化学構造からの有害性発現予測：人工知能技術の適用

植 沢 芳 広

AI-based QSAR Modeling for Prediction of Active Compounds in MIE/AOP

Yoshihiro Uesawa

Department of Medical Molecular Informatics, Meiji Pharmaceutical University;
2-522-1 Noshio, Kiyose, Tokyo 204-8588, Japan.

(Received August 1, 2019)

Toxicity testing is critical for new drug and chemical development process. A clinical study, experimental animal models, and *in vitro* study are performed to evaluate the safety of a new drug. The limitations of these methods include extensive time for toxicity testing, an ethical problem, and high costs of experimentation. Therefore computational methods are considered useful for estimating chemical toxicity. *In silico* toxicity prediction is one of the toxicity assessments that uses computational methods to predict and stimulate the toxicity of chemicals. *In silico* study aims to contribute to effective development of new drug and chemical design. In this study, quantitative structure-activity relationship (QSAR) models will be used to predict toxicities based on chemical structural parameters. Because toxicities are complicated physiological phenomena, a similar toxicity expression might cause a different pathway. Also, since many drugs with unknown mechanisms of actions are available, the application of artificial intelligence (AI)—which uses sophisticated algorithms—is increasingly used to predict toxicities. Recently, the QSAR model was applied to determine complex relations between chemical structures and toxicities. However, accuracy of QSAR for toxicity prediction remains an important issue. International competitions funded by public institutions can address this issue. Two important toxicity challenges were organized in the past decade; this article presents issues of toxicity based on these challenges.

Key words—artificial intelligence; adverse effect database; chemical structure; adverse outcome pathway; quantitative structure-activity relationship; machine learning

はじめに

新規な医薬品、化学品の開発において、機能とともに安全性の評価は重要な項目である。新規物質の有害性を評価するために、動物実験、*in vitro* 試験等が実施されている。これらの手法は経済的、時間的、倫理的な制約を伴うことが多い。一方、*in silico* 毒性予測手法は、上述した「wet な」試験法と比較して極めてハイスループット性が高いため、開発早期に組み込むことにより新規物質の効率的な開発に寄与し得る。本稿では化学構造から得られる情報を用いて、構造のパターンから毒性を予測する *in silico* 手法である定量的構造活性相関 (quantitative structure-activity relationship; QSAR) 解析関連手

法を紹介する。一般に、毒性は複雑な生理現象であることが多い。類似した毒性表現型であっても原因物質によって異なった生化学ルートで発現することがあり、その発現機序も未知の場合が少なくない。このような特徴を有する毒性を予測のターゲットとする場合、化学構造と毒性の間の非線形で複雑な関係をモデル化するために人工知能技術を適用する事例が増えている。それでは、この先端技術を使用することによってどの程度の予測精度が達成されるのだろうか？ この疑問に対して誤謬のない解答を得るためには、公的な機関が実施した国際的なコンペティションの成果が参考となる。この十年以内に国際的で大規模な毒性予測コンペティションが2回開催されている。2009年に開催された Case Studies on the Development and Application of *in-Silico* Techniques for Environmental Hazard and Risk Assessment (CADASTER) Environmental Toxicity Challenge¹⁾ では、水生毒性としてテトラヒメナの

明治薬科大学医療分子解析学研究室 (〒204-8588 東京都清瀬市野塩 2-522-1)

e-mail: uesawa@my-pharm.ac.jp

本総説は、日本薬学会第139年会シンポジウム S52 で発表した内容を中心に記述したものである。

成長阻害濃度を、2014年に開催された National Institute of Health (NIH) Toxicology in the 21st Century (Tox21) Data Challenge 2014²⁾ では、有害性発現経路 (adverse outcome pathway; AOP) における初期反応である分子開始イベント (molecular initiating event; MIE) を各々ターゲットとして、化学構造式からこれらの毒性関連生理活性の予測を競うコンペティションであった。本稿では、両大会で入賞した筆者の経験と QSAR 毒性予測の現状を紹介するとともに、AOP の概念を QSAR 毒性予測に組み入れた予測システムの概要を説明する。

1. 定量的構造活性相関

1964年、ハンシュ教授と藤田博士は、化学構造上の特徴に依存する物理化学的性質と酵素活性の相関に基づく QSAR 解析法を報告した。³⁾ この Hansh-Fujita 法は化学構造と生理活性の関係を定量的に扱う種々手法の起点となっている。

QSAR 解析は酵素反応等の自由エネルギー差を、物性によって説明するための手法であり、線形重回帰分析等を用いることによって説明性を担保することが重要となる。一方、本稿において対象とする毒性・有害性はかならずしも単一の重要なタンパク質の活性のみで説明できるとは限らない複雑な生理現象である場合が多い。近年、このような複雑な現象をターゲットとして QSAR 解析と類似した構造情報との関係のモデル化に成功したとする論文が多数報告されるようになり、これらの数理モデルを QSAR 予測モデルと称することが一般化しつつある。⁴⁻⁷⁾ なお、毒性をターゲットとした QSAR 様解析法のことを定量的構造毒性相関 (quantitative structure-toxicity relationship; QSTR) と表現することもある。以下、QSTR の概念を含む“広義の QSAR”について述べる。

化学物質の引き起こす複雑な生理現象の1つとして、多細胞生物の増殖阻害が挙げられる。個体の増殖は毒性物質によって異なる複雑なメカニズムを介して抑制されると考えられることから、多様な化合物群が惹起する増殖阻害に対して単一の原因タンパク質は想定し難い。にもかかわらず、化学物質が惹起する死をターゲットとした予測を QSAR 解析によって達成したとする、魚類、ミジンコ、テトラヒメナ等を対象とした解析事例が数多く存在する。⁸⁻¹⁰⁾ ここでは、微小な水生生物であるテトラヒ

メナの増殖抑制活性を対象とした解析事例を紹介する。

2. CADASTER 環境毒性コンペティション

欧州における環境リスク評価のためのインシリコ技術開発研究プロジェクト CADASTER¹¹⁾ が、人工ニューラルネットワーク国際会議 2009 (International Conference on Artificial Neural Networks 2009; ICANN '09) 及び欧州ニューラルネットワーク協会 (European Neural Network Society; ENNS) と共催することにより、当時としては最大規模の環境毒性 QSAR 予測コンペティションが開催された。予測のエンドポイントはテトラヒメナに対する化学物質の 50% 増殖抑制濃度 (IC₅₀ 値) であった。コンペティション参加者は主催者側より 644 種類の QSAR モデル構築用化合物群及び 449 種類のモデル検証用化合物群の化学構造及び IC₅₀ 値を与えられた。一定期間後、IC₅₀ 値を伏せられた 120 種類のブラインドテストセット化合物群において化学構造のみが開示された。参加者はモデル構築用化合物セットから構築した QSAR モデルを用いて予測したブラインドテストセット化合物群の IC₅₀ 値を主催者側に送り、主催者側は IC₅₀ 実測値と予測値の残差である二乗平均平方根誤差 (RMSE) を計算することによってモデルの精度を決定した。なお、本コンペティションの詳細は CADASTER プロジェクトのホームページ (<http://www.cadaster.eu/node/65.html>) を参照されたい。上記の化合物構造等もホームページからダウンロードできる状態で保持されている。

CADASTER 環境毒性コンペティションの優勝者は Dr. Gavin C. Cawley (University of East Anglia) 及び Dr. Olga Obrezanova (Optibrium Ltd.) の 2 チームとなった。RMSE 値は各々 0.741 及び 0.756 であった。筆者も本コンペティションに参加し、第 9 位の成績であった (RMSE: 0.794)。なお、第 10 位までのチームの予測モデルは優勝者との間に統計

植沢 芳広

明治薬科大学医療分子解析学研究室・教授。京都大学薬学研究科博士課程修了。毒性予測コンペティションである NIH-Tox21 DATA Challenge 等にて入賞。医薬品・化学品の生理作用を理解するために計算機化学的なアプローチを試みている。

Fig. 1. Scatter Plots of Observed and Predicted pIC₅₀ Values for the Final Evaluation Set Compounds in the CADASTER Environmental Toxicity Prediction Challenge

Extracted from http://www.cadaster.eu/sites/cadaster.eu/files/final_results.html (Color figure can be accessed in the online version.)

的有意差を示さないことが主催者側からコメントされ、われわれは first-pass winner と称された。First-pass winner の予測モデル構築法にはサポートベクターマシン等の機械学習法が多く見受けられ、増殖阻害活性のような複雑な生理活性を化学構造情報に紐付けるには非線形手法が有用であることが推察された。筆者が用いた方法も機械学習であるアンサンブル人工ニューラルネットワークであった。Figure 1 に優勝者である Cawley 博士及び Obrezanova 博士と第 9 位の筆者の予測結果を示す。前述したホームページから他の first-pass winner の予測結果も概観できるが、すべてのモデルで同じ予測傾向を示していることが分かる。すなわち、多くのブラインドテストセット化合物において、誤差はあるものの QSAR 予測は可能である。一方、優勝者及び first-pass winner 全員の傾向として、一部の化合物群の予測結果が過小評価されてしまっている。これらの誤差は、モデル構築用化合物群の情報が不十分であったことに起因している可能性が推察される。すなわち、QSAR 予測モデルの構築において、データセットの質と量が重要であることが示唆されていると考えられる。

3. 核内受容体・ストレス応答パスウェイ活性予測コンペティション

2014 年、核内受容体及びストレス応答パスウェイを活性化する化合物の QSAR 解析技術を用いた予測精度を競うコンペティションである Tox21 Data Challenge 2014 が開催された。Tox21 は、アメリカの公的研究機関であるアメリカ国立衛生研究所 (NIH)、アメリカ合衆国環境保護庁 (United States Environmental Protection Agency; U.S.

EPA)、及びアメリカ食品医薬品局 (U.S. Food and Drug Administration; FDA) が参画する大規模な毒性研究関連プロジェクトである。Tox21 Data Challenge 2014 は NIH の一機関である国立先進トランスレーショナル科学センター (National Center for Advancing Translational Sciences; NCATS) が開催した。¹²⁾ 本コンペティションでは、12 種類の主要な AOP の MIE となり得る核内受容体及びストレス応答パスウェイ¹³⁾を活性化する化合物の識別が課題とされた。参加者には 12 種類のターゲット (エストロゲン受容体 α , エストロゲン受容体 α 基質結合部位, アロマターゼ, AhR, アンドロゲン受容体, アンドロゲン受容体基質結合部位, PPAR- γ , Nrf2/ARE, 熱ショック応答エレメント, ATAD5, ミトコンドリア膜電位, 及び p53) 毎に 7000–9000 種類の化合物の化学構造及び活性化の有無からなる情報が開示された。上述の環境毒性予測チャレンジを大きく上回る化合物に対する均質な実験値が投入されているという意味において、これは毒性関連の QSAR コンペティションとして史上最大のスケールであった。参加者の構築した予測モデルは活性を伏せられた 647 種類の最終評価用化合物に対する予測結果に基づいて、receiver operating characteristic (ROC) 曲線下面積 (area under the curve; AUC) により評価された。18 カ国 125 チームが登録した本コンペティションにおける予測ターゲット毎の優勝者の所属は Johannes Kepler University Linz, Technical University of Munich, Budapest University of Technology and Economics 及び明治薬科大学 (筆者の所属機関) となった。^{14–16)} 優勝者は全員が機械学習を使用しており、12 ターゲットに

Table 1. Molecular Initiating Events Published in PubChem Database by Tox21 Project

#	AID	Molecular initiating events	Activity
1	1159528	activator protein-1	agonist
2	743054	androgen receptor full	antagonist
3	743053	androgen receptor lbd	agonist
4	743063	androgen receptor lbd	antagonist
5	1259387	androgen receptor with antagonist	agonist
6	1259247	androgen receptor with stimulator	antagonist
7	743219	antioxidant response element	agonist
8	743139	aromatase	antagonist
9	743122	aryl hydrocarbon receptor	agonist
10	720516	ATAD5	genotoxic inducer
11	1347037	caspase-3/7 in CHO-K1	inducer
12	1347034	caspase-3/7 in HepG2	inducer
13	1224892	constitutive androstane receptor	agonist
14	1224893	constitutive androstane receptor	antagonist
15	1159519	endoplasmic reticulum stress response	agonist
16	743091	estrogen receptor alpha full	antagonist
17	743077	estrogen receptor alpha lbd	agonist
18	743078	estrogen receptor alpha lbd	antagonist
19	1259248	estrogen receptor alpha with stimulator	antagonist
20	1259391	estrogen receptor alpha with antagonist	agonist
21	1259394	estrogen receptor beta	agonist
22	1259396	estrogen receptor beta	antagonist
23	1259404	estrogen related receptor	agonist
24	1259403	estrogen related receptor	antagonist
25	1259402	estrogen related receptor with PGC	agonist
26	1259401	estrogen related receptor with PGC	antagonist
27	743239	farnesoid-X-receptor	agonist
28	743240	farnesoid-X-receptor	antagonist
29	720719	glucocorticoid receptor	agonist
30	720725	glucocorticoid receptor	antagonist
31	743228	heat shock response	activator
32	1259388	histone deacetylase	antagonist
33	1224896	histone variant H2AX	agonist
34	1347033	human pregnane X receptor	agonist
35	1224894	hypoxia	agonist
36	720637	mitochondrial membrane potential	disruptor
37	1159518	NFkB	agonist
38	720552	p53	agonist
39	743227	peroxisome proliferator-activated receptor delta	agonist
40	743226	peroxisome proliferator-activated receptor delta	antagonist
41	743140	peroxisome proliferator-activated receptor gamma	agonist
42	743199	peroxisome proliferator-activated receptor gamma	antagonist
43	1347036	progesterone receptor	agonist
44	1347031	progesterone receptor	antagonist
45	1159555	retinoic acid receptor	antagonist
46	1159531	retinoid X receptor-alpha	agonist
47	1159523	retinoid-related orphan receptor gamma	antagonist
48	1259390	sonic hedgehog signaling	agonist
49	1259392	sonic hedgehog signaling	antagonist
50	743067	thyroid receptor	antagonist
51	1224895	thyroid stimulating hormone receptor	agonist
52	1259393	thyroid stimulating hormone receptor	agonist • antagonist
53	1259395	thyroid stimulating hormone receptor	antagonist
54	1347030	thyrotropin releasing hormone receptor	agonist
55	1347038	thyrotropin releasing hormone receptor	antagonist
56	1347035	transforming growth factor beta	agonist
57	1347032	transforming growth factor beta	antagonist
58	743241	vitamin D receptor	agonist
59	743242	vitamin D receptor	antagonist

AID means assay ID in Tox21/PubChem.

Fig. 2. The Concept of QSAR Prediction for Toxicities/Adverse Effects with Molecular Initiating Events in Adverse Outcome Pathways

対するこの厳密な外部検証における優勝者の予測性能 (AUC) はすべて 0.8 以上であった。ミトコンドリア膜電位攪乱においては AUC 値が 0.95 と高度な予測が達成された。²⁾ なお、筆者はランダムフォレストを用い、エストロゲン受容体リガンド結合部位予測の部において優勝者となった。¹⁷⁻¹⁹⁾ 本コンペティションより、規模の大きなデータと機械学習を QSAR 予測モデルに適用することによって、ストレス応答パスウェイのような比較的複雑な生理現象であっても化学構造情報のみから予測できる可能性が示された。なお、全課題の半数に関して最良の予測結果を提出したのは Johannes Kepler University Linz であった。彼らは優勝者の中で唯一ディープラーニングを使用したことから話題となった。

ディープラーニングは人工ニューラルネットワークの一種であるが、従来法と比較して中間層の重層化等の特徴とし、極めて高い予測精度を達成できる新規な学習法として現在の人工知能ブームを牽引している。現在、筆者らもまた独自の手法として分子の立体構造を画像としてディープラーニングに取り込む Deep Snap 法が良好な成績を示すことを同コンペティションのデータを用いて示している。²⁰⁻²²⁾ 今後、ディープラーニングに関連する様々な手法が進展し、より高度な QSAR 予測が実現されることが期待される。

4. 核内受容体・ストレス応答パスウェイに基づく毒性予測

以上に述べてきたように、完全ではないものの

QSAR 解析法は種々の生理活性の予測に有用である。QSAR を適切に活用することによって、化学品の規制、医薬品の創薬ステージ、そして臨床的な応用まで幅広い分野において安全性、動物倫理、経済性などの面で有益な情報をもたらすことができると考えられる。一方、今回紹介した解析事例はいずれも機械学習を用いていることから、得られた予測モデルはヒトの認識の限度を超えて複雑となる。結果として解釈不能な数式を単に予測結果を得るために使用することとなる。しかし、説明性の伴わない予測モデルは毒性学的な知見の創出に寄与し難いばかりでなく、行政、臨床、あるいは共同研究者への理解を促す必要が生じる様々な場面で使用の制限を余儀なくされる可能性がある。そこで筆者は、米国 Tox21 プロジェクトが公開している核内受容体・ストレス応答パスウェイの活性データベース (Table 1) を種々の化学物質の発現する毒性に対する予測モデルに組み込むことによって、説明性を併せ持つとともに予測精度の向上を指向した新規なモデルの概念を提唱した (Fig. 2)。

2016 年の日本化学工業協会長期自主研究活動研究助成金 (Long-Range Research Initiative; LRI) 課題「毒性発現経路および化学構造情報を指標とした薬物および化学物質に起因するヒト有害反応の予測法の開発」において採択されたこの概念は、国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (Japan Agency for Medical Research and Development; AMED) の創薬支援推進事業「創薬支援インフォマティクスシステム構築」における「肝毒性予測のためのインフォマティクスシステム構築に関する研究」(グループリーダー：山田 弘博士 (基盤研)) の化学構造に基づく医薬品の肝毒性予測に採用されている。さらに、経済産業省の出資による「毒性関連ビッグデータを用いた人工知能による次世代型安全性予測手法開発プロジェクト (AI-SHIPS プロジェクト) [プロジェクトリーダー：船津公人教授 (東京大学)]」において構築される化学品の種々毒性予測モデルの一部として採用されている。なお、AMED プロジェクトにおいてはヒトの肝毒性をエンドポイントとして設定する必要があるが、公共データとして活用できるヒト肝毒性と紐付いた化合物数は制限されているのが現状である。そこで、上述した 2016 年 LRI プロジェクトにおいて採択されたアイ

ディアの 1 つである医薬品副作用データベースからエンドポイントを抽出する概念を適用した。¹⁸⁾ すなわち、FDA が公開している副作用自発報告データベース FDA Adverse Event Reporting System (FAERS) を Japan Pharmaceutical Information Center (JAPIC) が整理した JAPIC AERS を用い、肝毒性易誘発性化合物を定義するとともにその識別モデルを構築している。AMED プロジェクトで構築した肝毒性及び種々核内受容体・ストレス応答パスウェイ予測モデルは 2019 年度中にポータルサイトから使用できるように公開を準備中である。

おわりに

毒性を対象とした QSAR 予測モデルの予測性能はどの程度信用してよいのか、この誰もが抱く疑問を解消する目的で、公的なコンペティションの話題を概説した。よく吟味された予測モデルであれば、完全ではないものの予測は可能であることがご理解頂けたと思う。一方で、公開されている予測モデルが正しいバリデーションを経ているのかは、その信憑性を左右する最も重要な要因となり得るので注意が必要である。毒性の QSAR 解析は、実態としての化学物質を必要としない極めてハイスループット性の高い予測法を提供することができる。予測の限界を認識しつつ適切に運用することによって多様な応用が可能であることは言を俟たない。今後の周辺分野の進展によって、予測精度の向上とともに適用分野が拡大していくことを期待したい。

謝辞 本論文の一部で、日本化学工業協会長期自主研究 (LRI) (16_PT01-02)、AMED 創薬インフォマティクスシステム構築 (18nk0101103h0004)、経済産業省 AI-SHIPS プロジェクト (20180314 財製第 8 号) の支援を受けた内容を紹介しています。

利益相反 開示すべき利益相反はない。

REFERENCES

- 1) Case Studies on the Development and Application of *in-Silico* Techniques for Environmental Hazard and Risk Assessment (CADASTER), Environmental Toxicity Prediction Challenge: <http://www.cadaster.eu/node/65.html>, cited 26 July, 2019.

- 2) National Center for Advancing Translational Sciences, National Institutes of Health, Tox21 Data Challenge 2014: <https://tripod.nih.gov/tox21/challenge/>, cited 26 July, 2019.
- 3) Hansch C., Fujita T., *J. Am. Chem. Soc.*, **86**, 1616–1626 (1964).
- 4) Cronin M. T. D., Richarz A. N., Schultz T. W., *Regul. Toxicol. Pharmacol.*, **106**, 90–104 (2019).
- 5) Heo S., Safder U., Yoo C., *Environ. Pollut.*, **253**, 29–38 (2019).
- 6) Kar S., Roy K., Leszczynski J., *Methods Mol. Biol.*, **1800**, 395–443 (2018).
- 7) Adhikari C., Mishra B. K., *Curr. Comput. Aided Drug Des.*, **14**, 7–28 (2018).
- 8) Furuhashi A., Toida T., Nishikawa N., Aoki Y., Yoshioka Y., Shiraishi H., *SAR QSAR Environ. Res.*, **21**, 403–413 (2010).
- 9) Kaiser K. L., Niculescu S. P., Schultz T. W., *SAR QSAR Environ. Res.*, **13**, 57–67 (2002).
- 10) Castillo-Garit J. A., Abad C., Casañola-Martin G. M., Barigye S. J., Torrens F., Torrealanca A., *Curr. Pharm. Des.*, **22**, 5085–5094 (2016).
- 11) Case Studies on the Development and Application of *in-Silico* Techniques for Environmental Hazard and Risk Assessment (CADASTER): <http://www.cadaster.eu/node/4.html>, cited 26 July, 2019.
- 12) National Center for Advancing Translational Sciences (NCATS): <https://ncats.nih.gov/>, cited 26 July, 2019.
- 13) Gohlke J. M., Thomas R., Zhang Y., Rosenstein M. C., Davis A. P., Murphy C., Becker K. G., Mattingly C. J., Portier C. J., *BMC Syst. Biol.*, **3**, 46 (2009).
- 14) Mayr A., Klambauer G., Unterthiner T., *Front. Environ. Sci.*, **3**, 1–13 (2016).
- 15) Huang R., Xia M., *Front. Environ. Sci.*, **25**, 1–3 (2017).
- 16) Uesawa Y., *Front. Environ. Sci.*, **15**, 1–6 (2016).
- 17) Uesawa Y., *Farumashia*, **51**, 952–956 (2015).
- 18) Uesawa Y., *Yakugaku Zasshi*, **138**, 185–190 (2018).
- 19) National Center for Advancing Translational Sciences (NCATS), National Institutes of Health, NCATS Announces Tox21 Data Challenge Winners: <https://ncats.nih.gov/news/releases/2015/tox21-challenge-2014-winners>, cited 26 July, 2019.
- 20) Uesawa Y., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **28**, 3400–3403 (2018).
- 21) Uesawa Y., *CICSJ Bull.*, **36**, 51–54 (2018).
- 22) Matsuzaka Y., Uesawa Y., *Front. Bioeng. Biotechnol.*, **7**, 65 (2019).