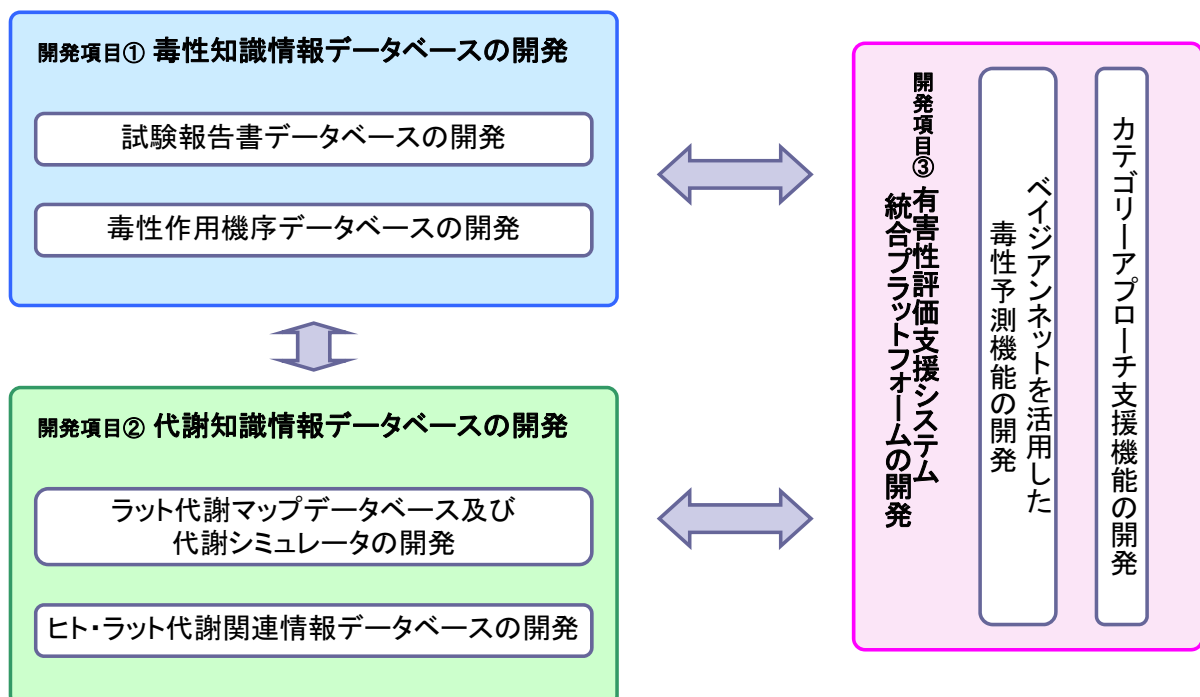


議題5 プロジェクトの詳細説明 (公開)

5.2 代謝知識情報データベースの開発

2009年8月13日(木)

「構造活性相関手法による有害性評価手法開発」 プロジェクト構成図



1. 開発項目の概要と目標

開発する2つのデータベースの役割

- ラット代謝マップDB(代謝シミュレータ)
 - 実験動物への投与で最終的に投与物質がどのような物質に代謝されるかを知るため(代謝経路情報が重要)
 - 既知反応情報を組み合わせて作成された代謝マップを示す
- ヒト・ラット代謝関連情報DB
 - ヒトへの毒性影響を予測する手がかりを得るため(代謝をはじめとした体内での動態情報が重要)
 - 種差を検討する手がかりとなる代謝及び動態情報を示す

達成目標（基本計画）

(1) 最終目標 (平成23年度)

- 主にラットの肝臓における代謝知識情報データベースの開発を完了する。約800種の化学物質について文献、報告書を精査することにより、第1相反応(酸化、硫酸化等の反応)及び第2相反応(グルクロン酸抱合等)を含め、基礎となる約500の代謝反応を網羅し、部分構造等の化学構造から代謝物、代謝経路を推定する代謝知識情報データベースを開発する。

(2) 中間目標 (平成21年度)

- 約400種の化学物質について文献、報告書を精査することにより、主にラットの肝臓における主要代謝反応を抽出し、部分構造等の化学構造から代謝物、代謝経路を推定することが可能な代謝知識情報データベース及び代謝シミュレータの試作版を開発する。

2. 中間目標(平成21年度)に対する達成度

2. 中間目標(平成21年度)に対する達成度

小項目	中間目標(平成21年度末) 出典:基本計画 p.5	研究開発成果	達成度
・ラット代謝情報データベースの開発及び代謝シミュレータの開発	約400種の化学物質について文献、報告書を精査することにより、主にラットの肝臓における主要代謝反応を抽出し、部分構造等の化学構造から代謝物、代謝経路を推定することが可能な代謝知識情報データベースの試作版を開発する。	約310物質の化学物質について主にラットの肝臓における代謝情報を原著論文から抽出し、代謝マップとしてデータベース化した。また、ラット肝ミクロソームの代謝シミュレータを開発した。今後、約100物質の代謝マップをデータベース化することにより、平成21年度中に目標を達成する見込みである。	○
・ヒト/ラット代謝関連情報データベースの開発		約60物質について、主にヒト及びラットについての動態情報を含む代謝関連情報を原著論文から収集し、データベース化した。また、ヒトCYP2E1の基質の構造から代謝反応部位を予測するモデルを開発した。今後、データベース検索システムを開発することにより、平成21年度中に目標を達成する見込みである。	○

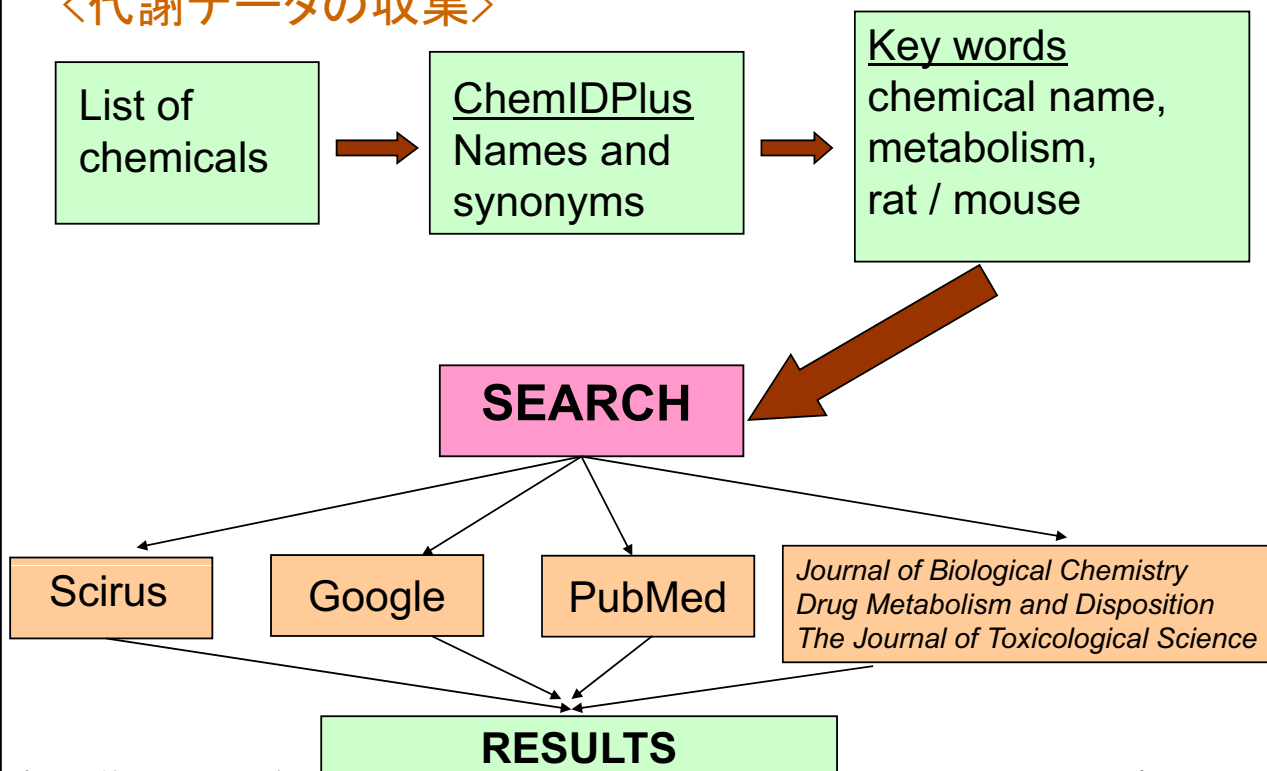
◎:達成、○:達成見込、△:未達、×:中止

3. 進捗状況と成果

(1)ラット代謝マップデータベース及び代謝シミュレータの開発

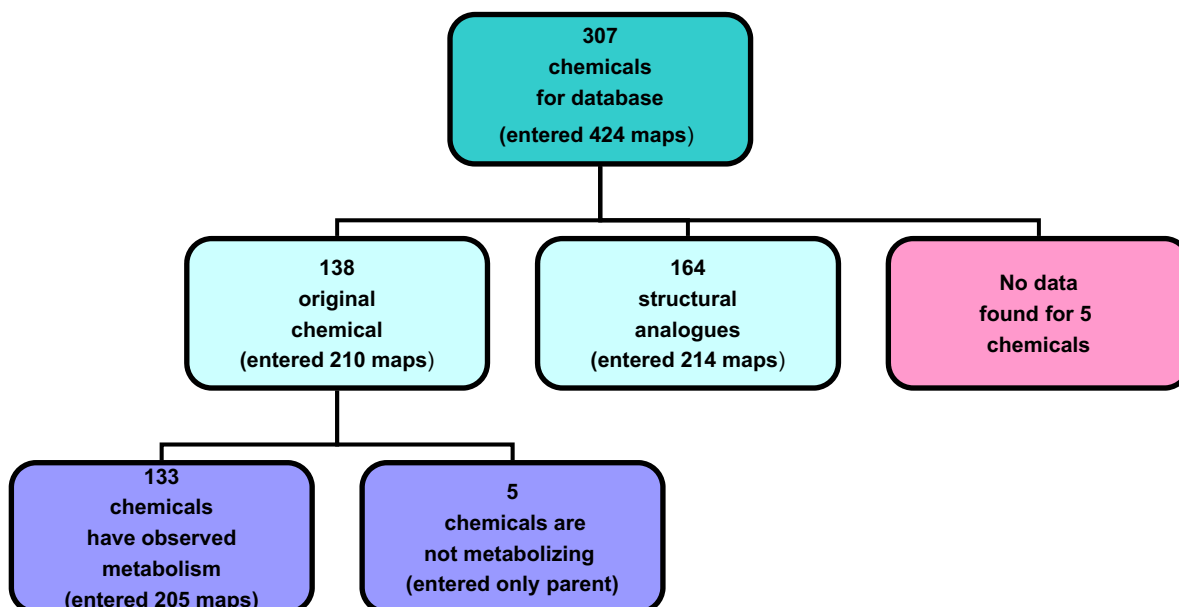
3. 進捗状況と成果(1) [ラット代謝マップDBの開発]

<代謝データの収集>



3. 進捗状況と成果(2) [ラット代謝マップDBの開発]

<データベース開発の現状(2009年6月)>



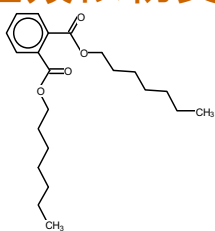
3. 進捗状況と成果(3) [ラット代謝マップDBの開発]

対象親物質の代謝情報がえられない場合には、
親物質の類似化合物の代謝情報を探索する。
——類縁化合物選定のアルゴリズム——

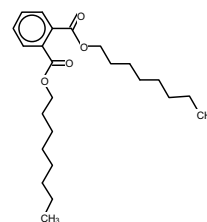
- 構造的な同族体で代替
- ハロゲン元素は、他のハロゲンに置き換えた化合物で代替
- 基本骨格が同じ又は位置異性体で代替
- 同じ官能基をもった類縁化合物で代替
- 親物質が複雑な構造の場合、芳香環又は脂環式構造をもつものはこれを元に類縁化合物を選定し代替

3. 進捗状況と成果(4) [ラット代謝マップDBの開発]

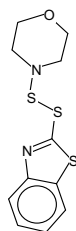
〈構造類似物質で代替の例〉



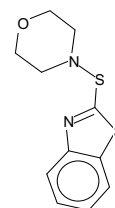
di-n-Heptyl phthalate
No. 43 from the list
(no data)



di-n-Octyl phthalate
analogue



2-(4-Morpholinyldithio)benzothiazole
No.117 from the list
(no data)



2-(4-Morpholinylthio)benzothiazole
analogue

3. 進捗状況と成果(5) [代謝シミュレータの開発]

<代謝シミュレータの原理>

Substrate	Principal transformations	Metabolites
	Geminal diol decomposition $\begin{array}{c} \text{C} \\ / \quad \backslash \\ \text{OH} \quad \text{OH} \end{array} \xrightarrow{P=1.00} \begin{array}{c} \text{C} \\ \quad \quad \backslash \\ \quad \quad \text{O} \end{array}$	
	β -oxidation $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{COOH} \xrightarrow{P=0.99} \text{CH}_3\text{CH}=\text{CHCOOH}$	
	Cyclohexanone oxidation $\text{Cyclohexanone} \xrightarrow{P=0.95} \text{Cyclohexanone-OH}$	
	Ester hydrolysis $\text{Ester} \xrightarrow{P=0.90} \text{Carboxylic acid} + \text{Alcohol}$	
	Amine decomposition $\text{Amine} \xrightarrow{P=0.75} \text{Carbonyl compound}$	
	ω -Oxidation $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3 \xrightarrow{P=0.40} \text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$	

Match? - Yes!

RESULT

3. 進捗状況と成果(6) [代謝シミュレータの開発]

<構築した代謝シミュレータの性能評価>

トレーニングセット: 164 物質についての内部感度 S

$$S = (X / (X + Y)) * 100$$

ここで、X=実測されている代謝物を正しく予測した数

Y=実測されている代謝物を予測できなかった数

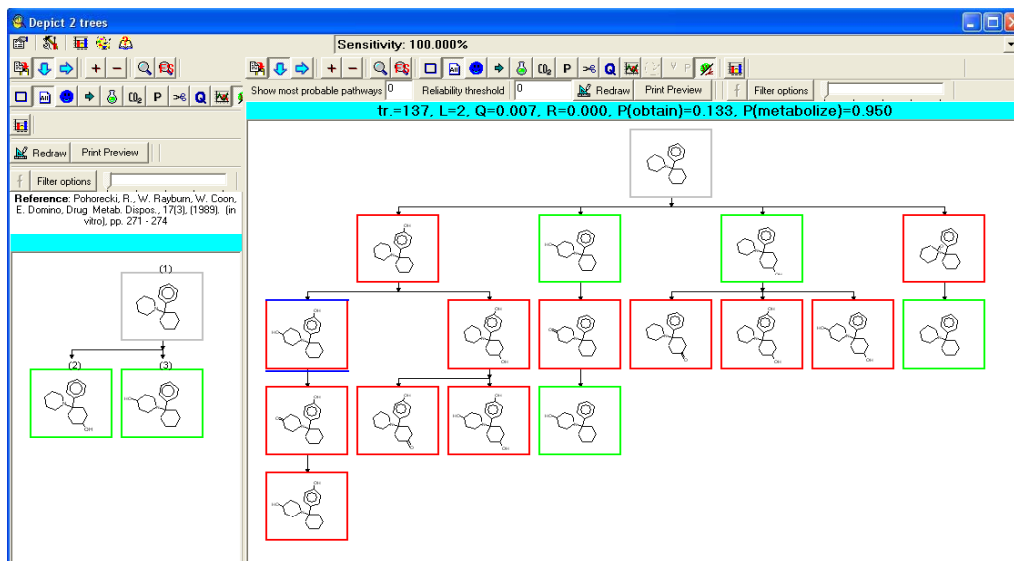
トレーニングセット内の物質をすべて予測し、それぞれのS値を算出し、平均内部感度を得た:

平均内部感度

85.2%

3. 進捗状況と成果(7) [代謝シミュレータの開発]

〈シミュレータの性能評価: Phencyclidineの例〉



Comparison between observed (left part) and simulated (right part) metabolic maps of a parent chemical, belonging to the structural domain of the simulator

3. 進捗状況と成果 まとめ [ラット代謝マップDB、代謝シミュレータ]

- 試験報告書が公開されている既存物質群のラット代謝情報の収集、DB化と代謝シミュレータの開発を行った。
- ラット代謝知識情報データベースの開発
 - 対象物質の代謝情報に関する文献調査を行い、307物質についてin vivo, in vitro実験系の代謝情報を収集しDB化した。
 - 検索対象の親物質の情報が得られない場合には、その類縁化合物情報を収集した。
 - DBに収載した情報は、代謝マップ424マップ、抽出文献1, 311であった。
- 代謝シミュレータの開発
 - 開発した代謝シミュレータは、対象化学物質に作用する生化学反応に関して、優先する代謝反応のリスト、化学物質の部分構造のマッチングを行うエンジンで構成されている。
 - 先ずラットの肝ミクロソームにおける代謝情報をトレーニングセットとして内部確認による性能評価を行い、代謝パスウェイの予測ができた。
- 平成21年度末に向けて
 - 代謝DBの対象物質を更に100物質収集、搭載(合計約400物質)
 - 代謝シミュレータについては、トレーニングセット外の対象物質を選定し、外部確認を行う。
 - in vitro試験に係わる代謝について、他の実験系のデータ(肝細胞、肝スライス、S9分画など)まで拡張し、代謝シミュレータを完成させる。

3.進捗状況と成果

(2)ヒト・ラット代謝関連情報データベースの開発

3. 進捗状況と成果(1) [ヒト・ラット代謝関連情報DB開発]

<代謝関連情報掲載論文の調査と収集>

■ 代謝関連情報掲載論文

- Google Scholar による検索を実施

調査物質数	代謝関連情報報告物質数(内数)	代謝関連情報掲載論文数
145	78	281

■ 代謝関連情報の生物種ごとの内訳

	ヒト	ラット	その他哺乳動物	その他生物種
論文数	47	173	84	23

※重複あり

↓

基質の構造による代謝予測手法でヒトの代謝物質を予測し、情報を拡充する

3. 進捗状況と成果(2) [ヒト・ラット代謝関連情報DB開発]

<代謝知識情報DBに収載する情報抽出と項目設計>

- 収集した文献から代謝関連情報を抽出(約130文献について実施)するとともにデータベースに収載するデータ項目と形式を検討
- データ項目(主要部分抜粋)

吸収	吸収率、Cmax、Tmax トランスポータの関与	代謝	関連酵素と分子情報 細胞内画分、代謝物 種差・系統差
分布	見かけの分布容積、反復に伴う経時変化 脳→中枢作用、脂肪組織→蓄積 肝臓→酸化抱合代謝、腎臓→尿中排泄 腎臓→タンパク結合 血液よりも高い濃度を示す臓器/器官 トランスポータの関与	排せつ	排せつ率 トランスポータの関与 種差・系統差
		相互作用、酵素阻害、酵素誘導試験の結果 毒性との関連性	

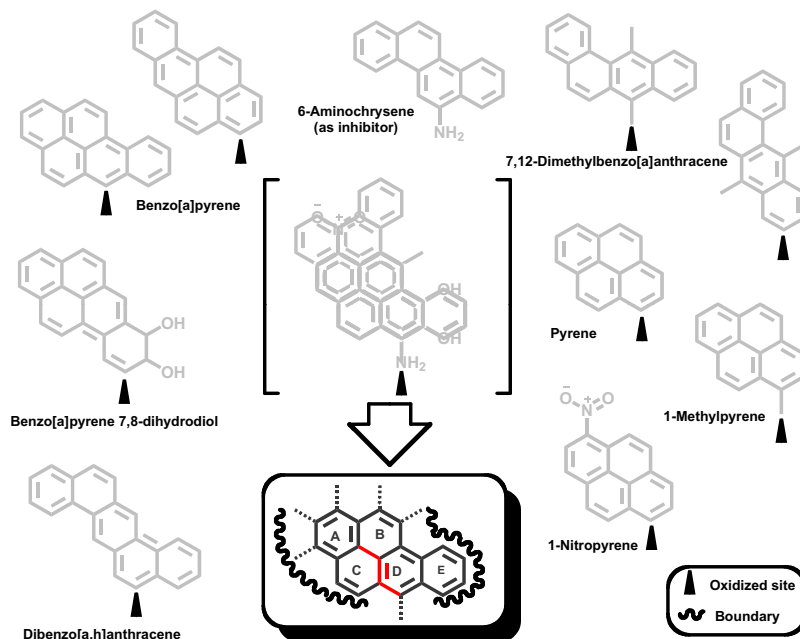
3. 進捗状況と成果(3) [ヒト・ラット代謝関連情報DB開発]

<代謝予測モデルの構築 - CYP2E1代謝予測手法>

- 多環炭化水素様の**テンプレート**に当てはめる。
---サイズ、形状の適合
- **テンプレート占有**を**スコア**として計数
- **テンプレート上の特異点**の**スコア**を付加
- 合計**点数が高い配置**が、優先的に酵素と反応し、酸化(還元)部位が特定される
- 同点、又は**2点以内の差で複数の配置**が適合する場合、合計点数の順に複数の代謝物が生成すると判断する。
- **ヘム接近部位**で起こる反応を、有機化学的(**電子密度等**)に考慮して、**生成物を予測**する。

3. 進捗状況と成果(4) [ヒト・ラット代謝関連情報DB開発]

<Template for interaction of CYP2E1 with substrates>



A core space of CYP2E1 active site was extracted from polycyclic aromatic hydrocarbons substrates and inhibitor. Arrows indicate the major site of the oxidation (interaction with heme - oxygen). Assumed space boundary is shown as chain.

3. 進捗状況と成果(5) [ヒト・ラット代謝関連情報DB開発]

<List of chemicals associated with CYP2E1>

Acetaminophen, Acetone, Acetonitrile, 2-Acetylbenzothiophene, Acrylonitrile, S-adenosyl-L-methionine, Ametryne, 6-Aminochrysene, Amino[a]carboline, 3-Amino-1,2,4-triazole, Aniline, 2-Anisidine, Anisole, Anthracene-9-carboxaldehyde, 9-Anthraldehyde, Arachidonic acid, Atrazine, Benzo[a]pyrene, Benzo[a]pyrene-7,8-dihydrodiol, 2,2'-Bipyridine, 1,3-Butadiene, *t*-Butylacetylene, *t*-Butyl ethyl ether, 4-*tert*-Butyltoluene, Caffeine, Carbamazepine, 4-Chloroaniline, 2-Chloro-4-toluidine, 4-Chloro-2-toluidine, Chlorzoxazone, Coumarin, 4-Cyclopropylanisole, 4-Cymene, 4-Cresol, Dacarbazine, cis-Crotononitrile, Dapsone, Deprenyl, Diallylsulfone, 2,4-Diaminoanisole, 2,4- and 2,6-Diaminotoluene, Dibenzo[a,h]anthracene, 1,2- and 1,4-Dichlorobenzene, 1,2-Dichloro-1-fluoroethane, 1,1-Dichloro-2,2,2-trifluoroethane, Diethyl ether, N,N-Diethylthiocarbamate, 2,5-Difluoroaniline, 2,3- and 2,6-Dimethylaniline, 7,12-Dimethylbenzo[a]anthracene, 2,6-Dimethylnaphthalene, Dimethylsulfoxide, 1,3-Dinitrobenzene, Enflurane, Estragole, Ethosuximide, Ethylbenzene, Ethyl isocyanide, Ethylmorphine, 1-Ethylpyrene, Flutamide, Furan, Genistein, 1,1,2,3,3,3-Hexafluoropropyl methyl ether, 13-Hydroperoxy-9,11-octadecadienoic acid, 3-Hydroxypyridine, Isoflurane, Isoprene, Isoquinoline, Lauric acid, (R+)-Menthofuran, 7-Methoxy-4-trifluoromethylcoumarin, 3-Methylacetanilide, Methylamino[a]carboline, 2- and 4-Methylanisole, Methyleugenol, N-Methylformamide, 3-Methylindole, 6-Methylnorharman, 4-Methylpyrazole, 1-Methylpyrene, 4-Methyltriazole, Nabumetone, Naphthalene, 2- and 4-Nitroanisole, Nitrobenzene, 6-Nitrochrysene, 4-Nitrophenol, 1-Nitropyrene, N-Nitrosobenzylmethylamine, N-Nitrosodimethylamine, N-Nitrosodiethylamine, N-Nitrosodipropylamine, N-Nitrosodiamylamine, N-Nitrosoethylmethylamine, 2-, 3- and 4-Nitrotoluene, Norharman, Oleic acid, 13-Oxo-9,11-tridecadienoic acid, Pargyline, Phenanthrene, Phenethyl isothiocyanate, Phenylacetylene, 5-Phenyl-1-pentyne, Propofol, 2-n-Propyl-quinoline, Pulegone, Pyrene, Quinoline, Safrole, Styrene, 4-Vinylcyclohexene, 1,2,3,5-Tetrachlorobenzene, Theobromine, Theophylline, Toluene, 2-Toluidine, Tranlylcypromine, 1,2,4-Trichlorobenzene, 1,1,2-Trichloro-2-fluoroethane, 2,2,2-Trifluoroethanol, 1,2,4-trimethylbenzene, Urethane, Vinylcarbamate, 1,2-, 1,3- and 1,4-Xylene. (Total 125 chemicals)

3. 進捗状況と成果(6) [ヒト・ラット代謝関連情報DB開発]

<代謝予測モデルによる予測結果>

■ 部位の予測

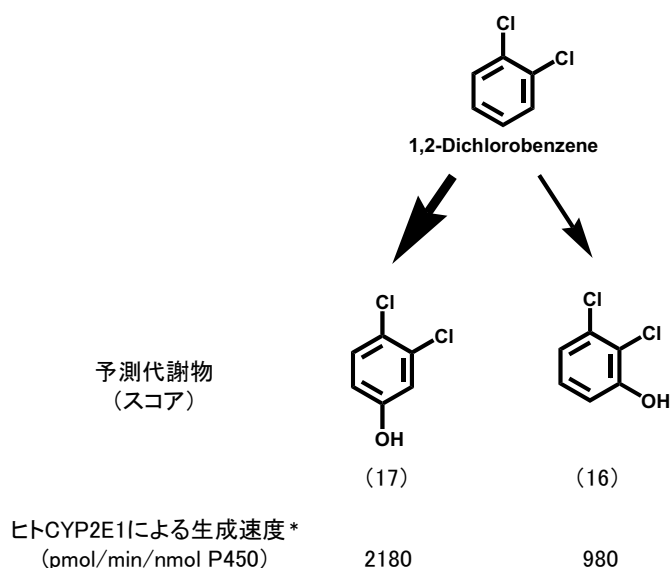
調べたCYP2E1に関連する物質(125)のうち、**すべての物質の代謝部位を予測**できた。

■ 順位の予測

特定の代謝経路のみ測定されている物質については確定できないが、**代謝プロファイルがほぼ確かな物質については、特定の2種の部分構造をもつ物質以外は、代謝部位だけでなく順序が合致**していた。

3. 進捗状況と成果(7) [ヒト・ラット代謝関連情報DB開発]

<2種類の代謝経路の予測例>



*Bogaards, et al., 1995

3. 進捗状況と成果(8) [ヒト・ラット代謝関連情報DB開発]

<本手法の適用性の確認>

- 未確認要素を含む5種の物質について in vitro代謝実験を実施した。
- 代謝物を生じない形態の酵素との結合は阻害を生じる(safrole)
- 酵素内基質収容空間サイズの厳密化 (t-butyltoluene)
- 例外を生じる部分構造の確認 (o-methylaniline deriv.)

3. 進捗状況と成果(9) [ヒト・ラット代謝関連情報DB開発]

<本手法の利用の効果>

- 体内解毒能、蓄積性
 - 代謝物が有害事象に関連する可能性の判断
 - 実験動物データのヒトへの外挿の信頼性
 - 有害事象の発生機序の考察
- これらを支援する有力なツールとなる。

3. 進捗状況と成果 まとめ [ヒト・ラット代謝関連情報DB開発]

- ヒトへの毒性影響を予測する手がかりを得るため、種差の検討に必要な代謝・動態情報に的を絞ったDBを構築。
- ヒトの薬物代謝酵素CYP2E1とその基質構造に注目した予測モデルを構築。試験報告書DBの物質の一部について予測を実施し、不足する情報を補完。

21年度末に向けて代謝予測モデルの検証実験を進め、モデルの精度向上を図るとともにこれらの情報を収載したDBと利便性の高い検索システムの開発を進める。

3. 進捗状況と成果 まとめ [代謝知識情報DB]

〈開発する2つのDBを組み合わせることによる効果〉

- | | |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none">■ ラット代謝マップと代謝シミュレータ<ul style="list-style-type: none">□ 類似物質を考慮 →可能性を提示□ 多段階の反応の全体を表示□ 未知の反応を予測 →新規物質の判断支援 | <ul style="list-style-type: none">■ ヒト・ラット代謝関連情報と予測モデル<ul style="list-style-type: none">□ 体内動態情報の提供 →毒性発現の判断支援□ 予測モデルによる代謝予測(部位、順位) →ヒトへの外挿判断支援 |
|---|--|

物質に注目して代謝情報を整理

生体側に注目して代謝情報を整理



物質及び生体反応の両面から代謝を捉えた情報が種差を踏まえたヒトへの毒性影響判断に役立つ

4. 最終目標への課題と達成見込み

4. 最終目標への課題と達成見込み

小項目	最終目標(平成23年度末) 出典:基本計画 p.6	最終目標達成への課題と達成見込み
ラット代謝マップデータベース及び代謝シミュレータの開発	主にラットの肝臓における代謝知識情報データベースの開発を完了する。約800種の化学物質について文献、報告書を精査することにより、第1相反応(酸化、硫酸化等の反応)及び第2相反応(グルクロン酸抱合等)を含め、基礎となる約500の代謝反応を網羅し、部分構造等の化学構造から代謝物、代謝経路を推定する代謝知識情報データベースを開発する。	更に400の親物質を選定し、中間目標と同様に、第1相の生体内変換(代謝)を対象として情報収集を行なうとともに、グルクロン酸抱合、硫酸抱合、グルタチオン抱合などの第2相反応の情報を収集しデータベース化、代謝シミュレータを開発する。第2相反応は、生体内での細胞における反応の情報収集になるが、十分な情報を検索できるかどうか課題である。これらにより目標達成は可能である。
ヒト/ラット代謝関連情報データベースの開発		ヒトの代謝関連情報の不足への対応が課題である。特にCYP1A2は、低分子化合物の代謝において重要で、動物種間で基質特異性に差があることが報告されているため、CYP1A2の代謝予測モデルの構築が必要である。また、このようにして開発した代謝DBは単独でも使用可能であるが、試験報告書情報や作用機序情報と連携した使い方を考慮する必要がある。これらにより目標達成は可能である。