

エストロゲンのスクリーニングにおける国際的標準化の進歩

ジェームズ・W. オーウェンズ

米国 プロクターアンドギャンブル社

おはようございます、ウィリアム・オーウェンズです。私はプロクターアンドギャンブル社の者ですが、OECD と USEPA の双方における「内分泌攪乱化学物質スクリーニングと試験の標準化および妥当性検討委員会」にも参加しています。今回の講演では、エストロゲン様活性のスクリーニングの標準化と妥当性検討に関する過去3年間の急速な進歩について、特にOECDを中心に、まとめてお話しします。

この活動を成功に収めるためには、エストロゲン類のスクリーニングと試験に関する国際協力と標準化を続けていかなければなりません。共有する手法についての同意が無ければ、我々はばらばらの断片を手にするだけです。経済的で効率のよい国際的活動が無ければ、一つの物質に対していろいろな手法で分析することになり、資源を浪費し、結果と解釈に異同をもたらすこととなります。

中心となる問題点は、スクリーニングする必要のある化学物質が莫大な数あることで、市場に出ている物質の数は、おそらく9万種類か、それを超えると思われまます。

各国の規制当局はそれぞれ独自の方法論を採ることもできますが、それだと重複が起こって費用がかさみ、場合によってはデータ同士が矛盾することも起こり得ます。そうではなく、共通の方法論を受け入れて、もっとも効率がよくなるように作業を分担することもできます。

各国および国際的なワークショップによって提唱されている解決策としては、次のように段取りされた、効率がよく段階的な枠組みが挙げられます。

1. 既存のデータを再検討して、利用可能な共有データベースを構築する。
2. 構造活性相関(SAR)を調べ、スクリーニングの必要がある化学物質を決める。
3. 作用メカニズムに関する *in vitro* スクリーニングを行い、化学物質の優先順位をさらに絞り込む。
4. 子宮増殖バイオアッセイなどの *in vivo* スクリーニングを行い、有害作用に関する確定的試験を行うべき化学物質を決める。
5. 有害作用に関する必要な試験を実施する。

妥当性の検討には、しっかりとした根拠のある手法が必要です。これは次のようにまとめられます。

- ・莫大な種類がある化学物質を、SARによって作業可能な程度にまで数を絞り込む。
- ・*in vitro* スクリーニングは、迅速、経済的かつ高感度なものにする。これによって、化学物質の数をさらに絞り込む。
- ・*in vivo* スクリーニングを毒物動態学と組み合わせることで適切な予測を可能にし、それによって、試験の対象とすべき物質の候補を明確にする。

どの段階も、調べる必要のない化学物質の数を偽陰性を伴わずに絞り込み、試験の必要がある化学物質の確定と優先順位設定に役立ちます。

スクリーニングと枠組みの妥当性を確認するためには、試験段階ではエストロゲン類の特性が明らかになっている必要があります。

このスライドでは、生殖試験において、 17β -エストラジオール、DES、EE などの強力なエストロゲン類の用量に関連した、機能的な生殖エンドポイントや発生エンドポイントをいくつか挙げています。どのエンドポイントも、現在の生殖試験法によって簡単に測定することができます。

- ・交配および性行動、交配時間
- ・♂および♀の生殖能と繁殖能(=同腹仔の数と生存率)
- ・妊娠期間、着床不成功、未熟産
- ・母獣の授乳行動

- ・仔獣の体重減少と生存率（生後 1、4、10 日）

ここに挙げたのは、多世代試験におけるその他のエストロゲン感受性エンドポイントです。

- ・♂と♀の生殖腺発生（形態、重量、組織病理）
- ・生殖管と副生殖器の発生（形態、重量、組織病理）
- ・性発達のベンチマーク：膣開口、包皮開裂、初回発情
- ・発情周期
- ・精巣上体内の精子の数と形態、運動能力のある精巣内精子細胞頭部数、一日の精子産生数

この 2 枚のスライドは合わせて、エストロゲン類の特性や特徴を示したものです。

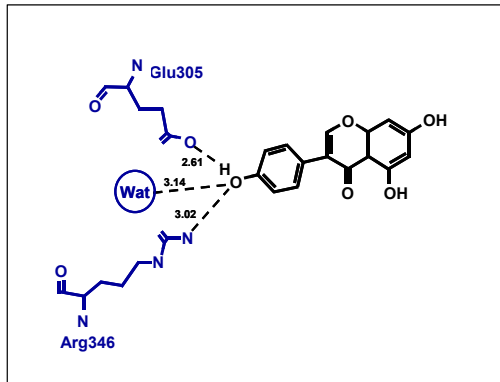
- ・弱いエストロゲンアゴニストが最初に引き起こすのは、この 2 番目のスライドにあるエンドポイントの 1 つもしくは複数であると考えられます。
- ・感度の高いエンドポイントが、まず最初に発現します。後で述べますように、膣開口がもっとも感度の高いエンドポイントだと考えられています。
- ・そして、用量が増大するにつれて、その他のエンドポイントが発現してきます。
- ・また、何らかのエストロゲン活性が現われるよりも前に、その他の毒性が観察される場合もあることが知られています。

提唱されているスクリーニングと試験のすべてについて、十分な量のデータが存在しているエストロゲン様物質が、限られた種類ながらあります。これらの物質は、各段階および枠組み全体の妥当性検討を行う際の基準となります。もっとも重要なデータは、最新の多世代試験のデータに、先ほどのスライドで示しましたエンドポイントのデータを組み込んだものです。該当する物質には、 17β -エストラジオール、エチニルエストラジオール、ゲニステイン、ノニルフェノール、オクチルフェノール、メトキシクロル、ビスフェノール A などがあります。

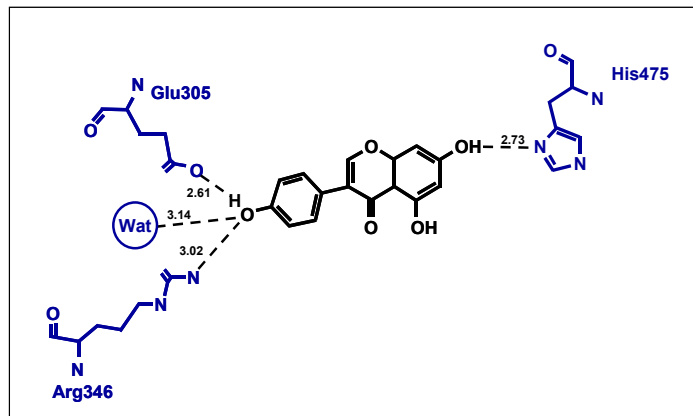
SAR を利用する際の基本原理は、どの物質に対しても、可能な限り単純な手法を採り、難解な計算などで過度に複雑なものにしないようにすることです。下位段階を利用するとします。フィルターとして、まず構造警告を用いると、最後の段階で計算が複雑にならざるを得ません。SAR は完璧ではないのです。SAR は方向性を示し、優先順位付けの助けになるだけのものであり、偽陰性が出ないように構築する必要があります。

例えば、妥当性の検討には、規制のための利用を念頭において、明確な科学的根拠と、モデルとしての一貫性が必要とされます。今の場合だと、エストロゲンリガンドは、エストロゲン受容体にある限られた空間の隙間すなわちポケットに、きちんと収まらなければなりません。アゴニストの実際の上限は、おそらくおよそ 350 立方オングストロームくらいであり、その物質は有機体炭素化学物質でしょう。そこで我々は、最初のフィルターを構築するための重要な決定要因を得ることになります。つまり、分子量で選別するというのは、SAR の出発点としては、明確に科学的根拠を持つわけです。また、この種の単純な篩い分けの効果は絶大であり、分子量が 95~1000 で有機分子であるという判断基準によって、化学物質をおよそ半分の数にまで減らせると思われます。

SAR 構造警告に関しても、科学的根拠があります。その第一は、受容体のポケット内にはアミノ酸が 2 個と水分子が 1 個あり、それがリガンドの水酸基と間で電子供与・受容結合を行うことで、リガンドを整列させる、というものです。ここでは、genistein はリガンドであります。この相互作用は、すべてのリガンドに対して共通です。

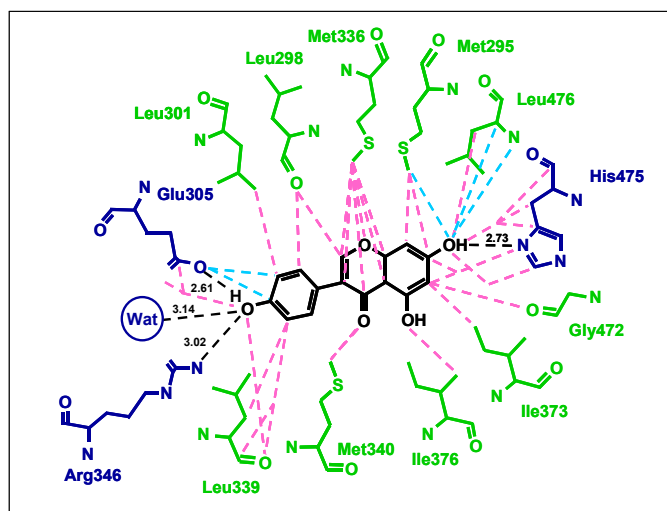


3番目のアミノ酸は、エストロゲンの2番目の水酸基と相互作用します。ただし、条件が揃っている場合にはこの相互作用は必須でないことが判っていますので、この作用は拘束力のある結合性を示唆するのみで、SARモデルに対する明白な選別基準にはなりません。



さらに、疎水性の側鎖およびポリアミド主鎖に関わった多くの相互作用があります。このことは、リガンドが標的細胞の細胞膜を通過して拡散するのに、疎水性質が必要であることを示しています。すなわち、リガンド類はある種の立体的特性を持つことが考えられます。

しかし、リガンドはそれぞれに異なる相互作用を持っています。エストロゲン受容体はかなり融通性に富み、幅広い種類のリガンドと結合できる受容体ですので、確定される候補物質の数がかなり大きくなることになります。このことは、後ほど、NCTR QSARモデルについてお話するときに触れることにします。



in vitro アッセイ法はまだ結論の出ていない分野であり、さらなる進展が必要です。

- ・アッセイ法の候補が複数存在する。
- ・それらのアッセイ法には、それぞれに長所と限界がある。
- ・開発が進んでいるものもあれば、進んでいないものもある。
- ・一部のアッセイ法は、例えばトランスフェクト培養細胞や、プロモーターとレポーター遺伝子と共に用いる cDNA などの共通の手順を共有していない。

簡単に言いますと、受容体結合はメカニズムとして必須の段階ですが、アンタゴニストとアゴニストの区別はありません。言い換えれば、化学物質は完全もしくは部分的なアゴニストであるかのように示されます。

- ・酵母菌レポーター遺伝子アッセイは、転写に基づいています。これは脊椎動物のステロイド転写系を完全になぞっているわけではありませんが、培養や取扱いが比較的容易です。
- ・脊椎動物のレポーター遺伝子系は、もっと複雑です。この方法は、トランスフェクションの安定性と感度の問題が立ちはだかっていますが、一部の事例では真の転写反応を得ることができます。
- ・MCF-7 増殖アッセイなどのその他の方法は、特異性の問題があつて偽陽性の確率が比較的高く、国際的に行った総当たり試験ではエタノールでさえもエストロゲン様物質であると示されました。

これら *in vitro* アッセイ法に関しては、比較検討と妥当性確認が急ぎ必要です。

今日、USEPA では、標準化した手法を用いて、200 種類以上の化学物質の結合親和性のデータベースを保有しています。

- ・そのデータベースは、さらに 250 種類の化学物質について、現在拡張され続けており、手法の妥当性を確認する作業が進められています。
- ・高速スクリーニングによる、約 500 種類の化学物質に関するデータベースも日本にあります。
- ・比較検討が終了した後は、これらデータベースは、QSAR モデルなどの *in vitro* アッセイ法の妥当性を確認する手段になります。

内分泌攪乱物質のプログラムに対しては、動物福祉団体から抗議を受けることが少なくありません。ですので、QSAR と *in vitro* スクリーニングが利用できるようになった暁には、*in vivo* スクリーニングは必要性が明らかなもの、例えば代謝や毒物動態などの動物そのものを使わなければ得られないものだけにすべきです。

- ・メトキシクロルは、肝臓でのジメチル化によって活性化する。
- ・その他に、ヒドロキシルによって活性化されたり、あるいはエステラーゼによって不活性化される化学物質もあると考えられる。
- ・グルクロン酸や硫酸塩との抱合は、化学物質の排泄を速めたり、化学物質が細胞膜を通過して受容体に結合できないようにする。
- ・さらに、エストロゲンアゴニストの大部分は、その疎水性質によって分配が引き起こされる場合がある。

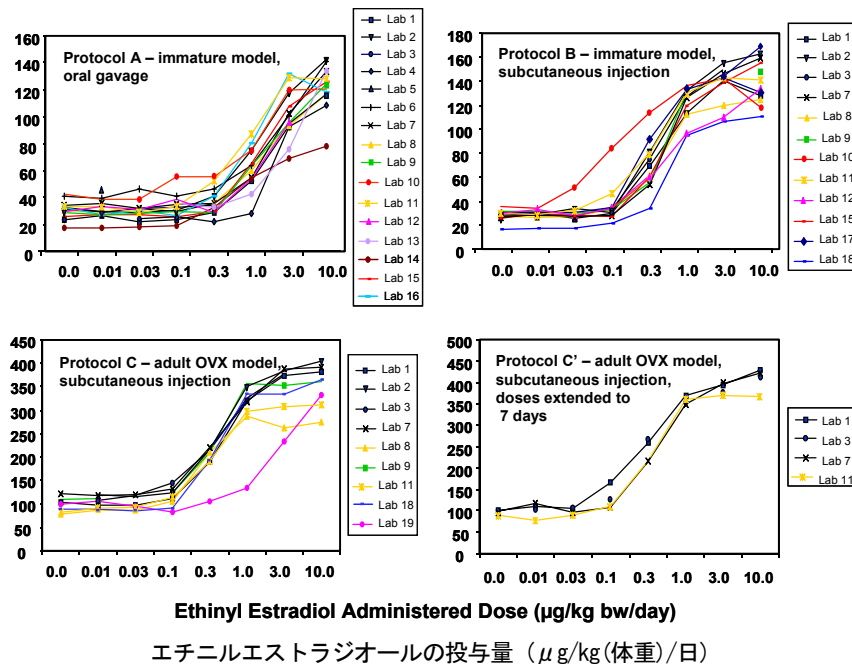
このように、規模の大きい試験に進む前には、*in vivo* スクリーニングで動物を使用して、妥当性を検証することが必要です

子宮増殖バイオアッセイは理想的なバイオアッセイ法です。

エストロゲンが標的組織の増殖を制御します。げっ歯類においては、子宮の増殖は 4~4.5 日の周期で急速かつ劇的に起こります。エストロゲン刺激による増殖期はおよそ 2 日間で、子宮の増殖の程度は重量にして 5~6 倍になるという大きなものです。計測は経時的・定量的に行います。アッセイの基礎条件は、実施期間は 3 日間、n=6 の小サイズ群で十分、コントロール群と 3 段階の用量段階が必要、ということになり、つまり必要となる動物個体数はわずかに 24 匹です。

ここで、この OECD の活動に指導的な役割を果たした日本の研究室に感謝の意を述べさせていただきます。また、井上博士と菅野博士にもお礼申し上げます。妥当性検討であるこの第 1 段階においては、未成熟個体および卵巣切除した若い成体を用いた方法が標準化されています。そしてこれらの手法が上手く反応することが、強力な

基準エストロゲン物質であるエチニルエストラジオールによって実証されました。続いて第 2 段階では、これらの試験手法が、何種類かの弱いアゴニストに反応すること、および、陰性物質によって特異性のあることが確かめられ、それらの反応が施設内・施設間において再現性を有することが実証されました。



- プロトコルA- 未成熟個体モデル、胃管投与
- プロトコルB- 未成熟個体モデル、皮下投与
- プロトコルC- 卵巣切除成体モデル、皮下投与
- プロトコルD- 卵巣切除成体モデル、皮下投与、投与期間を第7日まで延長

これがその第 1 段階の結果です。子宮重量をプロットしてあり、エチニルエストラジオール(EE)の用量段階は片対数で示してあります。10 各国にわたる 19 施設のデータです。上半分は、未成熟個体を用いたもので左側が胃管投与法、右側が皮下投与法です。下半分は、卵巣切除した若齢成体を用いたもので、左側が皮下投与後第3日のもの、右側が第7日のものです。

自然な生物学的変動があり、一部の施設では子宮増殖バイオアッセイの経験が初めてであったことを考えあわせて、私をはじめとする妥当性検討委員会のメンバーは、再現性は良好であり、これら 2 種類の手法が等価であると見なしました。

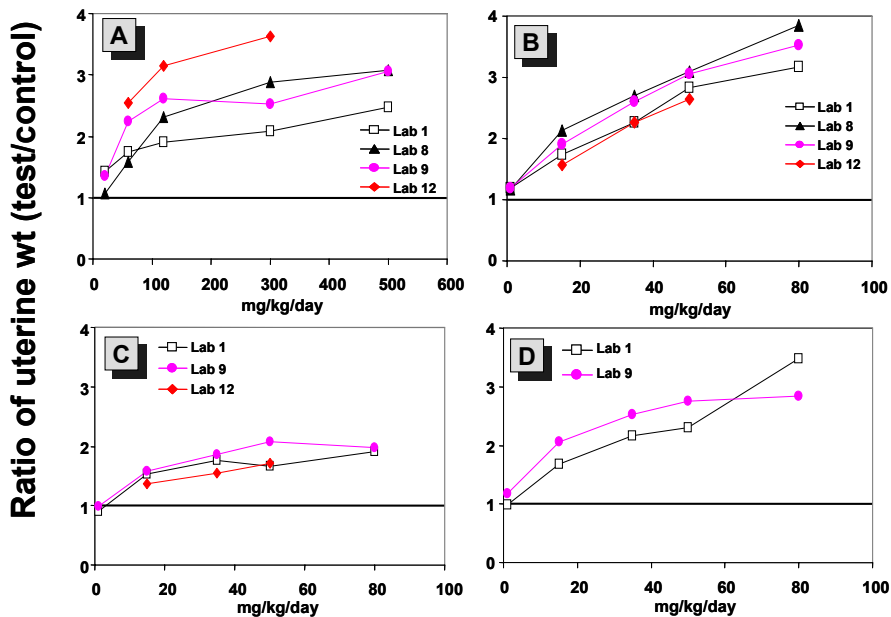
このスライドは、基準物質である EE や、第 2 段階で用いられた数種の弱いアゴニストなどの複数の化学物質の結合親和性を示したものです。弱いアゴニストは、子宮増殖アッセイによる規制対象になると思われる物質群を代表しており、その親和性は 2~5 桁程度小さいものです。

データには、メトキシクロルの活性代謝産物である HPTE も含まれています。データはすべて、NCTR 研究所という同一の施設によるものです。この研究所は、ER アッセイの標準化および、200 種類以上の化学物質のデータベースに基づいた QSAR モデルを開発した施設です。

| 物質名(略号) | IC ₅₀ (M) 平均値±標準偏差 | 相対親和性 (RBA) (%) | RBA の対数 |
|----------------------|---|-----------------|---------|
| 17β-エストラジオール(E2) | 8.99 x 10 ⁻¹⁰ ± 0.27 x 10 ⁻¹⁰ | 100.000 | 2.00 |
| エチニルエストラジオール(EE) | 4.73 x 10 ⁻¹⁰ ± 0.60 x 10 ⁻¹⁰ | 190.063 | 2.28 |
| ゲニステイン(GN) | 2.00 x 10 ⁻⁷ ± 0.21 x 10 ⁻⁷ | 0.443 | -0.35 |
| ジヒドロキシメトキシシクロル(HPTE) | 3.55 x 10 ⁻⁷ ± 0.15 x 10 ⁻⁷ | 0.253 | -0.60 |
| メトキシシクロル(MX) | 1.44 x 10 ⁻⁴ ± 0.66 x 10 ⁻⁴ | 0.001 | -3.20 |
| 4-ノニルフェノール (NP) | 3.05 x 10 ⁻⁶ ± 0.15 x 10 ⁻⁶ | 0.029 | -1.53 |
| ビスフェノール A (BPA) | 1.17 x 10 ⁻⁵ ± 0.64 x 10 ⁻⁵ | 0.008 | -2.11 |
| o,p'-DDT | 6.43 x 10 ⁻⁵ ± 0.89 x 10 ⁻⁵ | 0.001 | -2.85 |

これは、フィトエストロゲンであるゲニステインの第2段階の結果です。手法は、スライドの同じ場所にあります。結果は、コントロールを初期値の1とした相対値でプロットしてあります。水平線が初期値を表わしています。用量は、マイクログラムではなく、mgs/kg/dayの10の位と100の位で表わしてあります。

薬物動態学のデータから予測されるように、経口投与の方が大きな用量が必要でした。これは、経口投与されたゲニステインは血清中で95%以上が抱合され、荷電型になって不活性化されるために、標的細胞の細胞膜を拡散通過することはできないからです。同様の結果は、ビスフェノールAでも見られました。ノニルフェノールの場合は、同じ投与経路でも違いが見られましたが、その違いは大きなものではありませんでした。



子宮重量の比 (試験群/対照群)

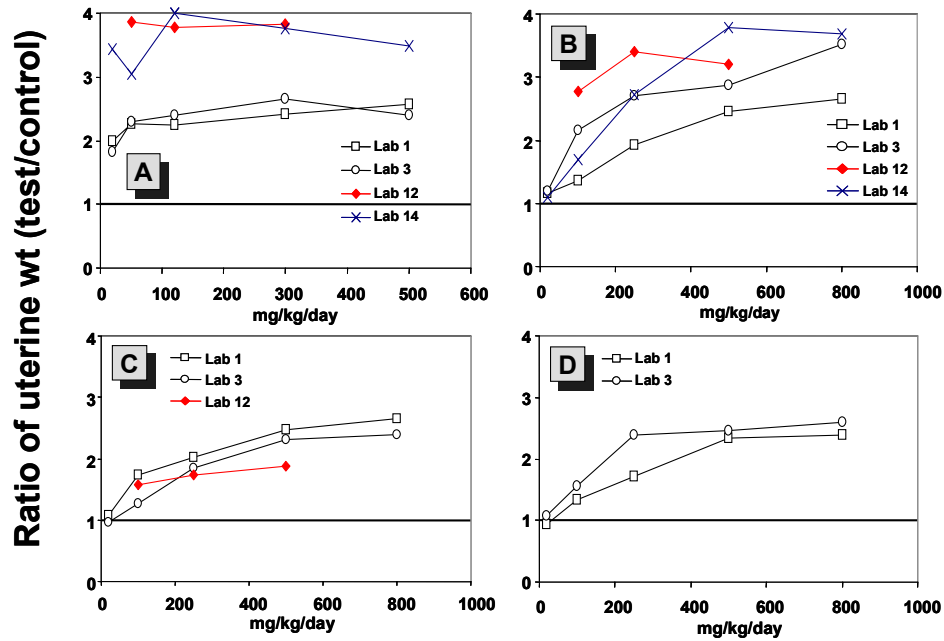
メトキシシクロルの場合は、胃管投与で迅速な活性化が見られ、皮下投与に比べて有効量が小さくなりました。私たちにとって若干の驚きだったのは、o,p'-DDTもやはり、すべての施設において経口投与の方が効果が強かったことです。

時間があまり残されていないので、その他の結果についてはざっと示すことにします。全体として再現性はとても良好でした。盲検法や符号化多化学物質段階でも良く再現されました。

陰性物質では、3箇所の施設で統計的に有意な軽微な重量増大が見られましたが、それと相殺するように、2箇所の施設ではやはり統計的に有意な軽微な重量減少がありました。このことから、背景的に若干の変動があることや、偽陰性または偽陽性の可能性のあることが想定されます。

そうした点については、現在慎重に評価を進めているところです。

再現性とは別に、妥当性検討については必須の課題があります。その結果は、当面の問題にとって有意義であり、かつ予測に役立つものなのか、という課題です。これは、子宮増殖で最初に統計的優位に達した用量、すなわち最小有効量をまとめたものです。右側の列にはその値を試験データである LOEL と比較しています。これは胃管投与方法を用いており、そのデータを食餌混入投与試験と比較しています。



子宮重量の比 (試験群/対照群)

ご覧のように、子宮増殖アッセイは、作用がエストロゲン関連(イタリック体が物質名)で現われた場合には、優れた予測因子になっているようです。しかし、生殖・発生アッセイの中では、その他の主要な毒性を考慮に入れることができません(太字体が物質名)。

また、曝露量についても考慮すべきです。見かけの安全マージンは大きなばらつきがありますが、ヒトでのゲニステイン摂取レベルは低い値の mgs/kg/day であり、その他の化学物質の中にはマイクログラム程度またはそれ以下であるのと対照的です。

| | 用量はすべて、mg(皮下投与)/kg(体重)/日 | | |
|-----------|--------------------------|------------|-------------|
| | 子宮増殖(最小有効量) | LOEL/LOAEL | 作用 |
| | (胃管投与) | (食餌混入) | |
| メトキシクロル | < 20 | 5 | (腔開口) |
| ゲニステイン | ~20 | 75 | (腔開口) |
| | | 50 | (遅発性の子宮頸がん) |
| ノニルフェノール | 30-75 | 68 | (腔開口) |
| オクチルフェノール | > 200 | 300 | (体重↓ & 臓器↓) |
| ビスフェノール A | 400-600 | 50 | (体重↓) |

斜体- 明らかにエストロゲンが関与したエンドポイント
 太字体- その他の毒性、多重遺伝子試験ではエストロゲン関与の効果は見られない。

ここで、重要な問題です。

子宮増殖アッセイは、単一のメカニズムを扱っていますが、エストロゲンのアゴニストやアンタゴニストには多様な内分泌メカニズムが存在します。では、すべてのメカニズムを扱えるような、大規模かつ高価な試験

群を開発しなければならないのでしょうか。それとも、包括的なバイオアッセイが必要なのでしょうか。そして、それは理論的に完璧なものでなければならないのでしょうか。

理解しておかなければならないのは、そうしたアッセイは、単純で信頼性の高いスクリーニングではなく複雑なものになる傾向があり、その感度は、子宮増殖試験やハーシュバーガー試験などの特異度の高い薬理学的スクリーニングにはおそらくは至らないということです。

いくつかのより複雑な亜慢性アッセイすなわち「小試験」法について、現在、評価が進められているところ

です。そうした亜慢性アッセイは、組織重量、組織病理、腔開口などの発生学的指標といったアピカルなエンドポイントを複数組み合わせ、複数の内分泌メカニズムを扱えるようなものにすることが試みられています。

- OECD の改変 28 日間反復投与試験(407)、動物数は 40~80 個体で 28 日間。
- USEPA などの春機発動アッセイ 各性 120 個体で 40 日間以上
- USEPA の子宮内アッセイと授乳アッセイ 500 個体以上で 65 日間
- ACC などの正常雄アッセイ 60 個体で 15 日間

しかし、アピカルなエンドポイントを利用した「小試験」では、特性や特徴の測定が、不可能ではないとしても、困難になります。特異度が低いために、非常に数多くの化学物質が「内分泌攪乱化学物質」であるとされることになりかねません。

ここには国際的標準化はありません。USEPA は春機発動アッセイと子宮内曝露アッセイを推し進めていますし、OECD は 28 日間反復投与アッセイである 407 の改変と拡張の評価を続けています。これらのアッセイ法で用いられる動物個体数と費用について考えれば、こうした重複は憂慮すべきことです。また、USEPA は、亜慢性アッセイ法のことを試験ではなくスクリーニングであると言っています。このように、標準化の枠組みが存在していません。

その他に、まったく新しい開拓分野である「トキシコジェノミクス」という手法もあります。

トキシコジェノミクスの発想は、分子レベルでの作用メカニズムに関与している複数の遺伝子に基づいて、特性や特徴を見るというものです。複数の遺伝子と言っても 4 つか 5 つといった程度ではなく、ある内分泌メカニズムを記述するのに 60 から 100 個の遺伝子があります。

この分野では、遺伝子のアップレギュレーションやダウンレギュレーションと有害作用とを、どうすれば正しい解釈でもって結びつけられるのか、ということが課題です。つまり、遺伝子発現の経時変化パターンと用量反応とを理解する必要があり、一つの遺伝子産物が第 2、第 3 の遺伝子群の転写を導くといったように、メカニズムを解読する必要があります。これもやはり経費が高くなりますが、迅速で特異的な手法になる可能性があり、ごく限られた個体数の動物を使うだけで、1 回のアレイチップで数日間のうちに多数のメカニズムを分析できるようになるでしょう。

今回の講演の内容をまとめます。

- 我々は、過去 3 年間で長足の進歩を遂げました。特にエストロゲンのスクリーニングの分野が顕著です。
- 確定的な 2 世代法においては、エストロゲンに関して十分に高感度であるエンドポイントが存在します。
- QSAR モデルの開発が現在進められており、うまくいけば近いうちに、比較と妥当性検討を行うことができるでしょう。
- 子宮増殖試験の妥当性検討はほぼ完了しており、独立専門委員会の評価を待っているところです。
- もっとも遅れている分野は *in vitro* アッセイ法です。この種のアッセイ法は多数あり、発生のさまざまな段階に関与しています。妥当性検討の活動も大して行われていません。
- さらに、407 や春機発動アッセイなどの短期試験法を利用する計画の標準化がまだ図られていません。エストロゲンに対する多段階法が技術的に可能であることがデータで証明されていますが、時間、経費、動物数をさらに節約しなければなりません。
- ですが、そのどの段階においても、国際的な協力と標準化が必要です。色々な手法が用いられ、異なった解釈がなされると、時間が資源が大量に無駄になります。

- 多数の規制当局が共通の基盤を見だし、国際的な枠組みの中で、このやり方の標準化と妥当性検討が進められるようにしなければなりません。また、作業を分担して迅速に進め、経費を節約するようにもしなければなりません。
- クーター博士が既に述べられたように、標準化と妥当性検討については、我々には OECD を活用するという手段があります。この活動を成功裏に終わらせることのできる道が我々の前にあるのです。ご静聴ありがとうございました。質問はありますか。

質疑応答

クーター：研究の結論は出そうですか？

オーウェンズ：もう一度言っていただけますか？

クーター：研究の結論は出そうですか？

オーウェンズ：ええ。ここにあるメトキシクロル、ゲニステイン、ノニルフェノールの予測点の場合ですが、これが最小作用量です。これは、食餌とともに、経口胃管で投与したものです。ご覧のように、多くの場合で非常に近い予測があります。しかし、最初に現われる毒性すなわち一次毒性がエストロゲン類とは関係ないものである場合には、予測点は離れていって、より低用量のほうに移動するようになり、子宮肥大で見られたようになります。

先に進みましょう。単一のメカニズムです。おそらく我々には、小さい試験という方針が必要です。しかし今は、必要な時間と動物数が急速に増加し始めています。

これらで行っていることの 하나가、アピカルなエンドポイントの採用です。しかし、それらアピカルなエンドポイントは特異性に欠けているために、特性解明は困難である場合があります。小さい試験の目的は単一のメカニズムではなく複数のメカニズムの実行ですので、将来は、複数のメカニズムでの実行を組み合わせる方法が要求されるものの一つになるでしょう。

しかし、これらは新しいもので、まだ試験や予備研究が行われていません。多遺伝子フィンガープリントかプロファイルを確立する必要があり、その情報をどのようにして有害作用と関連づけて解釈すればよいのかという問題があります。また、メカニズム解読には用量反応と遺伝子発現の一過性パターンについても行わなければなりません。しかしこの場合も、より迅速に、かつ効率的に、そして安価になるでしょう。

ハーマンがお尋ねの結論とは、規制当事者が内分泌攪乱問題に対処するのに必要とする手法が実現しつつある、とのことでした。我々は進捗しています。事実、その他の一部の試験ガイドラインは、あっとい間にまとまりました。2 世代試験には十分な数の高感度のエンドポイントがあります。QSAR は開発中で現在、有効性検討の段階にあります。OECD の子宮肥大アッセイプログラムは完了しました。

しかし、*in vitro* のアッセイの開発は、いろいろな段階にあります。小さい試験の問題もあります。この分野では現在、国際的なハーモナイゼーションがありません。一般的な化学物質を用い、データの比較が可能なプログラムが現在開始していることを、言っておきたいと思います。

エストロゲン類に対する段階的アプローチはうまくいきそうです。これは理論的には時間、経費、実験動物数を減らせますが、いずれの段階についても、これまでの素晴らしい国際協力とハーモナイゼーションを継続していかなければなりません。その中には、ハーマンが指摘したように、作業とデータの共有も含まれます。ここでも軽量化を忘れてはいけません。

ハーモナイゼーションがとれた段階的アプローチの適用に失敗するという事は、我々全員にとって時間と資源の無駄を意味し、結果と解釈の食い違いことで、化学物質に関する論争が引き起こされることとなります。そのようなことは回避することが可能です。

我々は、エストロゲンのプログラムがもうすぐ終了する段階にまで来ています。まだ進歩が必要です。しかし、この先 2 年間ですべて完了すると私は確信しています。ありがとうございました。

クーター：ありがとうございました。

オーウェンズ：他に質問は？

クーター：今日の午後には、すべてが明らかになると思いますが。質問ですか？はい、どうぞ。

質問：素晴らしいお話でした。QSAR モデルは精度が高すぎてはいけないとの指摘がありましたが、OECD では、QSAR モデルにおいて求めるべき精度をどの程度にするのかということについてこれまでに話し合われたり、ガイドラインを設けたりしたことがありますか？特に偽陽性や偽陰性、定量的予測能力に関してなんです。

オーウェンズ：今のご質問は、ある意味で、QSAR モデルの錯綜した歴史にとっても関連するものだと思います。過去には、当事者や機関のそれぞれがばらばらに異なるモデルを提唱していました。それらをテストしてみたところ、問題に突き当たってしまった

ので、QSAR がうまく働くかどうかに関して強い懐疑論が出てきました。

私が主張しているようなやり方を認めてくださるのなら、それは、優先順位の高い嫌疑物質を捕えられるように、完璧でないにせよ、慎重に組立てられる必要があります。それによって、*in vitro* もしくは *in vivo* のアッセイが必要であるとされる化学物質の同定ができるようになるでしょう。そうした物質には、もっと現実的なアッセイ法があります。

この場合、200 種類以上の化学物質によるしっかりとしたセットが訓練用に使用されたことに留意してください。このセットは、化学物質の構造についても、結合親和性についても、陰性物質も含めて、非常に広範囲のものが訓練用に使われたわけです。これが重要な点です。作用の強い少数の化学物質に選択的に基づいていないので、QSAR モデルは堅固であり、巧みに設計されていると見なすことができます。

さらに、次の段階では、試験対象の化学物質のさらに大きなデータセットを目指すことが課題になります。これが有効性検証につながります。このモデルが、広範囲の化学物質全体でどのくらいうまく働くかが、証明されることになります。

有効性検証において重要なのは、判断基準をどんどんと組み上げていくことです。そこで実行しなければならないことのひとつが、専門家や利害関係者が協力しあって、QSAR モデルがどのくらいの性能を発揮すると考えられるかを、公表することです。これは、結合親和性が完璧に予測できなければならないということなのではないでしょうか？そうではありません。数値の正負や桁数が大いに参考になるわけで、この場合も、偽陰性を避ける判断基準が用いられます。こうした条件の下で、有効性検討のプログラムが行われます。

クーター：ありがとうございました。