

201329020A

厚生労働科学研究費補助金

化学物質リスク研究事業

新規の安全性評価試験法を国際的なガイド
ラインにするための手法に関する研究

(H24-化学-指定-008)

平成 25 年度総括・分担研究報告書

研究代表者 西川 秋佳

平成 26(2014)年 4 月

目 次

I. 総括研究報告

- 新規の安全性評価試験法を国際的なガイドラインにするための
手法に関する研究 ----- 1
西川 秋佳

II. 分担研究報告

1. バリデーションが終了した試験法の国際的な第三者評価----- 19
小島 肇
2. 内分泌かく乱化学物質試験法のバリデーション ----- 31
小野 敦
3. 遺伝毒性試験法コメットアッセイ (*in vitro*) の試験法開発と
OECD 遺伝毒性試験ガイドラインの動向に関する研究 ----- 47
本間正充
4. 多臓器小核試験 (肝臓・胃腸管) プロトコールの基礎的検討
-多臓器小核試験の統計学的解析- ----- 60
森田 健、林 真
5. Bhas42 細胞を用いる形質転換試験の吸光度測定による
ハイスループット試験法の確立 ----- 87
山影康次
6. 国際状況の調査 ----- 94
一鬼 勉

III. 研究成果の刊行に関する一覧表 ----- 98

IV. 研究成果の刊行物・別刷り ----- 109

I. 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク評価研究事業）
総括研究報告書

新規の安全性評価試験法を国際的なガイドラインにするための手法に関する研究

研究代表者： 西川 秋佳 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長
研究分担者： 小島 肇 国立医薬品食品衛生研究所薬理部 新規試験法評価室長
林 真 食品医農薬安全評価センター センター長（理事長）
本間正充 国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部部長
森田 健 国立医薬品食品衛生研究所 安全情報部室長
小野 敦 国立医薬品食品衛生研究所 総合評価研究室主任研究員
山影康次 食品薬品安全センター 秦野研究所部長
一鬼 勉 一般社団法人日本化学工業協会 化学品管理部長

研究要旨

本研究は、我が国で開発された新規の安全性試験法の内、化学物質の安全性評価のための行政試験法として見込みのある方法について、国際状況調査を生かして欧米の研究機関と協力し、試験法の開発、バリデーションおよび／または第三者評価を経て、国際的に受け入れられる試験法ガイドライン案を OECD（経済協力開発機構）に提出することを目標としている。その過程において、日本における継続的な試験法ガイドライン開発のシステム、特に国際的に認められる第三者評価方法を確立することを目的とする。今年度は、バリデーションが終了した①遺伝毒性試験: *in vivo* コメットアッセイ、②*in vitro* 発がん性スクリーニング試験: Bhas 42 細胞を用いる形質転換試験（Bhas 法）および③眼刺激性試験: 短時間曝露法（STE 法）について、欧米の代替法評価センターや OECD 専門家グループの国際協力を受けて国際的な第三者評価を遂行し、ガイドライン案について議論した。④皮膚感作性試験: ヒト樹状細胞株を用いた検出法（h-CLAT）については、ECVAM（欧州動物実験代替法評価センター）における第三者評価に協力した。また、内分泌かく乱物質スクリーニング試験として、⑤*in vitro* エストロジェン受容体に対するレポーターアッセイである HeLa9930 細胞を用いたアンタゴニスト検出系（ER-STTA 法）および⑥*in vitro* アンドロゲン受容体転写活性化法（AR-EcoScreen 法）について、バリデーションを実施した。さらに、遺伝毒性試験である⑦肝小核試験および⑧胃腸管小核試験においては、バリデーション開始を念頭にプロトコルを固めるため、共同研究を継続した。

A. 研究目的

本研究は、我が国で開発された安全性試験法の内、化学物質の安全性評価のための

行政試験法として見込みのある方法につ

いて、国際状況調査を生かして欧米の研究機関と協力し、試験法の開発、バリデーション

ョンおよび／または第三者評価を経て、国際的に受け入れられる試験法ガイドライン案を OECD（経済協力開発機構）に提出することを目指している。その過程において、日本における継続的な試験法ガイドライン提案システムを構築することを目的とする。特に、バリデーションが終了し、その結果を科学的かつ客観的に評価する第三者評価方法について、国際的に認められる方法を確立することに主眼をおいている。なお、我が国で開発された安全性試験法とは、動物実験の 3Rs

（Replacement：動物を用いない方法に置き換える、Reduction：動物の使用数の削減、Refinement：動物使用に伴う苦痛の削減）に考慮しつつ、経済的かつ短期間に結果が求められる一方、ヒト安全性評価にこれまで以上に有用な“日本で開発されたまたは日本での研究が最も進んでいる安全性評価のための試験法”をいう。円滑に試験法を確立し、このシステムを幅広く国内に普及するため、多くの協力研究者に参画を求めていかねばならないことから、すべての研究者が自身のテーマだけでなく、密に連絡を取り、情報を共有化することにより、効果的・効率的に成果を求めるべく協力して進めた。

B. 研究方法

B-1 バリデーションが終了した試験法の国際的な第三者評価

日本で開発あるいはバリデーションが終了した試験法の内、1）遺伝毒性試験 *in vivo* コメットアッセイ、2）形質転換試験 Bhas42 アッセイ（Bhas 法）、3）皮膚感受性試験 human Cell Line Activation Test

（h-CLAT）および 4）眼刺激性試験 短時間曝露法（STE 法）について、国際機関の協力を得て、peer review を実施した。これら試験法に関する TG 案を OECD に提出した。これらの過程の中で、日本に適した peer review の方法をまとめた。

B-2 内分泌かく乱化学物質試験法のバリデーション

ER-STTA アンタゴニスト試験法については昨年度までに得られた結果の詳細解析を行い、SMT においてクライテリアの変更や今後の方針について検討を行い、さらに SMT で合意した内容について OECD VMG-NA において報告を行い、ガイドライン化に向けた今後の対応について議論を行った。AR EcoScreen 法については、VMG-NA メンバーより構成される SMT を組織し、バリデーション試験計画を策定し、国内 3 施設、海外（韓国）1 施設の参加によるバリデーション測定を実施した。

B-3 遺伝毒性試験法コメットアッセイ (*in vitro*) の試験法開発

2013 年 11 月 20～22 日にカナダのオタワで開催された遺伝毒性の経済協力開発機構（OECD）テストガイドラインのレビューに関する専門家グループ会議に参画し、OECD 遺伝毒性試験ガイドラインの改訂に関する調査・研究を行った。

B-4 多臓器小核試験法の開発

肝臓および胃腸管を用いる反復投与小核試験の実施は、日本環境変異原学会哺乳動物試験研究会（MMS 研究会）に委託した。両試験ともに、追加物質による検討、固定

細胞の保存期間の検討、対象臓器における陰性対照の小核出現頻度の検討、対象臓器の病理組織学的検査を実施した。さらに肝臓については、データギャップの補填ならびに肝細胞増殖指標の検討を行った。

B-5 Bhas42 細胞を用いる形質転換試験の吸光度測定によるハイスループット試験法の確立

発がん物質として 8 物質、非発がん物質として 4 物質を選択し、Bhas 42 細胞を用いて 96 ウェル法によるイニシエーション試験およびプロモーション試験を実施した。培養終了後、過酸化水素で 24 時間処理後、WST-8 を加え、マイクロプレートリーダーで 450 nm の吸光度を測定し生細胞率を求めた。その後、同じプレートをメタノール固定し、ギムザ染色し、肉眼観察による形質転換巢の有無を判定した。観察法およびカットオフ値 (0.12) 法では形質転換巢を有する陽性ウェルの数について、多重性を考慮した χ^2 検定を行い、吸光度の平均値法ではダネットの検定を行った。

B-6 国際状況の調査

経済協力開発機構(OECD)で 8 か月ごとに開催されている化学品合同会合(Joint Meeting of Chemicals Committee and Working Party on Chemicals, Pesticides and Biotechnology)の第 51 回会合(2014 年 2 月開催)の SCHEDULE OF ACTIVITIES FOR 2014(ENV/JM(2014)17)に記載されている試験法開発状況を調査し人健康にかかわる部分を抜粋した。

C. 研究結果

C-1 バリデーションが終了した試験法の国際的な第三者評価

研究方法に示した 4 試験法は、いずれも OECD, EURL ECVAM (欧州動物実験代替法評価センター)、ICCVAM (米国動物実験代替法に関する省庁間連絡会議)などの国際機関により、peer reviewが実施され、h-CLATを除く試験法で評価を終了した。OECDの専門家会議にて、これら試験法に関するTG案を議論した。なお、これら報告書完成に至る経緯概要および長短所を調べたところ、いずれも優れたpeer review報告書であったが、その進め方には一長一短があることがわかった。

C-2 内分泌かく乱化学物質試験法のバリデーション

ER-STTA アンタゴニスト試験法についてのバリデーション試験は全ての施設で測定を終了し、複数の施設で最終的に定量性を担保する目的として設定したリファレンスクライテリアを満たすデータの取得が出来なかったものの、コード化化学物質の定性的評価については、施設間再現性が示され、ガイドライン試験法としての有用性が確認された。結果を受けて、定性的評価法としてガイドライン提案することについて OECD VMG-NA の合意が得られた。一方、AR EcoScreen 法についてのバリデーション測定は、VMG-NA メンバーの協力により選定された被験物質を用いて、SMT を組織して試験計画を策定し、国内外 4 施設におけるバリデーション測定を行った。フェーズ 1 では、全ての施設が 3 測定でクライテリアを満たすデータの取得に成功した。フェーズ 2 においても全ての施設で再現性の

高いデータの取得に成功し、被験物質の判定結果はほぼ完全に一致したものの、アンタゴニストアッセイ 1 物質については最高濃度の違いにより陽性反応が検出されない施設があった。

C-3 遺伝毒性試験法コメットアッセイ (in vitro) の試験法開発

カナダ、デンマーク、欧州委員会、イタリア、日本、オランダ、ノルウェー、スウェーデン、英国、米国、経済産業諮問委員会 (BIAC) および国際動物保護委員会 (ICAPO) からの参加者が会議に出席した。会議ではナノ材料の遺伝毒性評価に関するガイダンス、および現行の遺伝毒性試験テストガイドラインの改訂作業に参画した。統計値と生物学的重要性の両方に基づいてデータを解釈することが重視され、陰性の背景データの充実と、計測細胞数の変更を中心に議論され、ガイドラインが改定された。

C-4 多臓器小核試験法の開発

追加物質検討では、DEHP および carbendazim は肝臓で、NMUT、MNU、PhIP は主要発がん標的臓器の胃あるいは結腸で小核誘発性を示した。ホルマリン固定細胞懸濁液の保存期間の検討では、1 年間室温保存あるいは約 3 年間冷蔵保存による影響は認められなかった。陰性対照の小核出現頻度の検討では、肝臓で 0.05~0.06%、腺胃で 0.07~0.09%、結腸で 0.08~0.17% であった。病理組織学的検査では、遺伝毒性肝発がん物質は肝細胞分裂の増加を示唆する所見が、胃発がん物質は胃での核崩壊やびらんの増加が、結腸発がん物質では結腸での核崩壊が認められた。肝臓でのデータ

ギャップ検討では、NDPA、DAB および MMS はいずれも 4 週間投与でも陽性を示したが、KA は 4 週間投与でも陰性であった。また、肝細胞増殖指標の検討では、肝細胞分裂指数は 8 週齢で 0.09% であったが、10 週齢では 0.0005% と極めて低かった。

C-5 Bhas42 細胞を用いる形質転換試験の吸光度測定によるハイスループット試験法の確立

陰性対照プレート (52 プレート) について、陰性ウェル (4668 ウェル) と陽性ウェル (324 ウェル) の吸光度の分布を調べた結果、その平均吸光度はそれぞれ 0.011 および 0.36 であり、明らかに異なる値を示したが、両者の吸光度範囲が重なり、吸光度の値によって形質転換巢の有無を明確に区別することは困難であった。これらの分布から、陰性ウェルの 0.21% (10 ウェル) が陽性ウェルとなる 0.12 をカットオフ値とした。12 物質について 3 つの判定法の比較を行った。従来の観察法と比較した場合、吸光度の平均値法では 5 物質が、カットオフ値法では 3 物質が不一致の結果となった。しかしながら、カットオフ値法のイニシエーション試験の結果はエームス試験の結果と完全に一致し、イニシエーション試験とプロモーション試験を合わせた結果は、発がん性試験の結果と完全に一致し、従来の観察法および平均値法よりも良好な結果が得られた。

C-6 国際状況の調査

現在、活発に開発されているのは、主に生きた動物を使用しない *in vitro* 試験法である。これは、EU の「化粧品に関する 2009

年 11 月 30 日付欧州議会・理事会規則 1223/2009 (2009 年 12 月 22 日付官報 L342 掲載)」により、2013 年 3 月より化粧品および化粧品の成分の安全性を確認する目的での動物実験が禁止されたことによる理由が大きい。また、これらとは別に国連の国際的な化学物質管理のための戦略的アプローチ(SAICM)が実施され、それを確認するため国際化学物質管理会議(ICCM)が定期的で開催されている。その中で内分泌かく乱物質やナノマテリアルなどが新規政策課題(Emerging Policy Issues)として取り上げられている。したがって、各国および OECD はこれらに対処するために各種毒性試験ガイドラインの開発に大きく動き出している。

D. 考察

D-1 バリデーションが終了した試験法の国際的な第三者評価

上記した試験法の内、h-CLAT を除く試験法について、peer review 報告書および TG 案を用いて国際的な専門家と議論した。結果として、*in vivo* コメントアッセイの TG 案について専門家間で合意が得られ、本年 4 月に開催される OECD WNT (ナショナルコーディネーター) 会議において承認される可能性が高くなった。なお、国際的な peer review の進め方については、現状では、OECD の進め方が最も日本に導入しやすいと見ている。

D-2 内分泌かく乱化学物質試験法のバリデーション

ER-STTA アンタゴニスト試験法プロトコールは、定性的判定法としての信頼性が示され、定性的評価系としてガイドライン

提案することが合意されたが、定量的評価値については施設内では安定しており、施設間でも大きな違いはなく定量的評価にも有用であると考察された。一方、AR EcoScreen 法の測定結果は施設内・施設間ともに非常に安定しており、本系は、非常にロバストで定量性に優れた評価法であると考察された。

D-3 遺伝毒性試験法コメントアッセイ (*in vitro*) の試験法開発

本会議後、2 つの Web 会議(1 つは *in vitro* テストガイドラインに関するもの、1 つは *in vivo* テストガイドラインに関するもの)が 12 月半ばに実施され、上記の整理統合されたテストガイドラインについて協議が行われた。その結果、上記に示したように *in vivo* 試験の動物の性と動物数に関しては現行のガイドラインのままで合意された。これら改訂ガイドラインは 2014 年 4 月に WNT での承認を受け、その後、正式に発行される予定である。

D-4 多臓器小核試験法の開発

肝臓および胃腸管小核試験とともに、対象標的臓器発がん物質に対する高い感受性および特異性が示され、本試験法の有用性が示された。一方、非発がん物質や異数性誘発物質についての検証数は少なく、試験系の非発がん物質特異性に関しては引き続き検討が必要である。また、固定細胞の保存法や期間、施設間の相違なども更なる知見が必要である。陰性対照における低い小核出現頻度は、統計学的処理の検出力にも影響するため、至適観察細胞数の検討が必要となる。病理組織学的検査の利用を含め、対象臓器における細胞毒性評価の必要性な

らびにその方法に関する検討が必要である。

D-5 Bhas42 細胞を用いる形質転換試験の 吸光度測定によるハイスループット試験法 の確立

今回我々は 12 物質について、同一プレートから得られた 3 種類の方法による判定結果を比較した結果、カットオフ値法の結果は、エームス試験結果や発がん性試験結果と良く一致していることから、カットオフ値に達するような増殖活性を獲得した前がん細胞を評価に加えることにより発がん性の予測性が向上すると考えられた。このように、過酸化水素法にカットオフ値を設定することにより高精度で発がん性を予測できることが示唆された。

D-6 国際状況の調査

OECD は、長く化学物質の毒性試験法ガイドラインの開発を行っており、近年は動物実験の規制強化に伴って、生きた動物を使用しない試験法やより使用動物数の少ない試験法の開発や改良に資源を振り向けている。また、あらたに持ち上がってきている問題(Emerging Policy Issues)にも対応するために、今までになかった試験法開発にも力を入れている。日本において、新たな試験法を国際的なガイドラインにするためにも、この OECD の試験法開発の状況を知っておくことは、効率的に進めるうえで非常に重要である。

E. 結論

日本で開発あるいはバリデーションが終了した試験法について、国際機関の協力を得て、peer review を実施し、これら試験

法の TG 案を OECD に提出した。その中で、*in vivo* コメットアッセイの TG 成立の目途がたった。

ER-STTA 法、AR EcoScreen 法ともにバリデーション試験の結果、化学物質の内分泌かく乱性ガイドライン試験法としての有用性が示された。得られた結果をもとに早急に OECD ガイドライン提案を行うことについて SMT 及び VMG-NA で合意された。

経済協力開発機構(OECD)の遺伝毒性試験ガイドラインの改訂を行った。

肝臓および胃腸管を用いる多臓器小核試験の有用性を示す知見が多く得られた。より頑健な試験法として確立するには、更なる検討が必要である。

我々が開発した過酸化水素処理による形質転換試験法は、形質転換した細胞からなるコロニー(形質転換巣)を形態学的に判別する従来法の欠点を解決することができると考えられた。

新たな試験法開発や、改訂を目指す場合には、試験法開発の状況を把握しておくことが重要である。開発中の試験法が現在どの位置にあると認識されているか再確認でき、個別試験法開発における今後の方向性をも確認できることになる。

F. 健康危険情報

特になし

G. 研究成果

G-1. 学会発表

1. 小島 肇：シンポジウム 8 : *in vitro* を用いた創薬安全性評価とその外挿性、*in vitro* によるスクリーニング(総論)、第 40 回日本毒性学会 学術年会、2013

- 年6月17-19日、幕張メッセ
2. 山口宏之、小島 肇、竹澤俊明：
Vitrigel-EIT 法：ヒト角膜上皮組織シート型培養モデルをもちいた高感度な in vitro 眼刺激性試験、第40回日本毒理学学会 学術年会、2013年6月17-19日、幕張メッセ
 3. 川上哲、尾上誠良、松本康浩、戸田嗣人、大崎尚人、若栗忍、岩瀬裕美子、山本敏誠、高木広憲、中村和希、細井一弘、小島 肇：医薬品の光毒性ポテンシャル評価のための ROS アッセイバリデーション試験、第40回日本毒理学学会 学術年会、2013年6月17-19日、幕張メッセ
 4. 内野正、竹澤俊明、山下邦彦、小島 肇、清水久美子、秋山卓美、五十嵐良明：
Vitrigel-EIT 法：ヒト角膜上皮組織シート型培養モデルをもちいた高感度な in vitro 眼刺激性試験、第40回日本毒理学学会 学術年会、2013年6月17-19日、幕張メッセ
 5. 小島 肇：日本での皮膚感作性代替法開発状況について、皮膚感作性試験ワークショップ、2013年7月12日、日本化学工業協会
 6. Kojima H：Workshop: Alternative Test Methods and International Regulatory perspectives, JaCVAM: Recent Progress and Future Plans for the Validation and Acceptance of Alternative Testing in Japan, The XIII International Congress of Toxicology, June 30-July 4, 2013, COEX, Seoul, Korea
 7. Kojima H：Our Practical Examples of International Validation Studies for Establishing OECD Test Guidelines , The International Symposium of the Cneter of Alternative Methods for Safety Evaluation of Cosmetics, July 2, 2013, COEX, Seoul, Korea
 8. 小島 肇：代替法の国内外の動向、皮膚基礎研究クラスターフォーラム、2013年8月1日、亀戸文化センター
 9. 小島 肇：動物実験代替法の国内外の動向と化粧品・医薬部外品の規制、日本化粧品技術者会 大阪支部 勉強会、2013年8月30日、薬業年金会館
 10. 小島 肇：代替法の最新情報、動物実験についての知識を高めるための教育訓練 2013年9月11日、農研機構 中央農業総合研究センター
 11. Kojima H, Oshimura M, Saito K, Saito F and Imatanaka N：Japanese Project “ARCH-Tox” for the Future Chemicals Management Policy: Research and Development of in vitro and in vivo Assays for Internationally Leading Hazard Assessment and Test Methods, 15th Annual Congress of European Society for Alternative to Animal Testing, 2013年9月17日、リンツ（オーストリア）
 12. Kojima H, Stokes W, Horii I, Hwan K.B and Spielmann H、Peer Review Panel Evaluation of the ROS Photosafety Assay, 15th Annual Congress of European Society for Alternative to Animal Testing, 2013年9月15日、リンツ（オーストリア）
 13. 小島 肇：in vitro 探索毒性試験の展望、

- 日本薬物動態学会 第28回年会シンポジウム9、2013年10月10日、東京
14. 小島 肇：三次元培養モデルの現状と可能性、株式会社ニコゲームリサーチ創立10周年記念特別講演会
 15. 小島 肇：動物を用いないで医薬部外品の承認申請を取ることは可能か？、日皮協 会員研修会、2013年10月24日、京都
 16. Kojima H, Oshimura M and Imatanaka N : Japanese Project “ARCH-Tox” for alternative to 28-day repeated dose oral toxicity study) , 10th annual Meeting of KSAAE (Korean Society of Alternative Animal Experiments) , 2013年11月6日、韓国中央大学
 17. 小島 肇：昨今の皮膚毒性評価法の動向、安全性評価研究会 安全性評価研究会 2013年冬のセミナー、平成25年12月7日、住友ベークライト、東京
 18. 小島 肇：J a C V A M国際シンポジウム：日本動物実験代替法学会の活動、日本動物実験代替法学会 第26回大会、平成25年12月19-21日、京都テルサ
 19. 小島 肇：シンポジウム4：動物実験代替法の化粧品規制に関する現状、日本動物実験代替法学会 第26回大会、平成25年12月19-21日、京都テルサ
 20. 小島 肇：ランチョンセミナー：動物実験代替法開発における課題とカイコの可能性、日本動物実験代替法学会 第26回大会、平成25年12月19-21日、京都テルサ
 21. 内野 正、清水 久美子、竹澤 俊明、山下邦彦、小島 肇、秋山 卓美、五十嵐 良明：ビトリゲルチャンバーを用いた皮膚感作性試験代替モデル（下面暴露法）、日本動物実験代替法学会 第26回大会、平成25年12月19-21日、京都テルサ
 22. 木村 裕、藤村 千鶴、渡辺 美香、齋藤 るみ子、鈴木 紀之、岩城 知子、山影康次、齋藤 幸一、中島 芳浩、近江谷 克裕、酒井 綾子、丸谷 あおい、大森 崇、山崎 晶次郎、小島 肇、田中 憲穂、相場 節也：IL-8 Luc assay の施設間差試験およびデータセットの作製、日本動物実験代替法学会 第26回大会、平成25年12月19-21日、京都テルサ
 23. 丸谷 あおい、相場 節也、木村 裕、渡辺 美香、鈴木 紀之、岩城 知子、山影康次、齋藤 幸一、中島 芳浩、近江谷 克裕、山崎 晶次郎、小島 肇、田中 憲穂、小林眞弓、森 梓、大森 崇：IL-8 Luc assay におけるばらつきを考慮した班手基準の提案、日本動物実験代替法学会 第26回大会、平成25年12月19-21日、京都テルサ
 24. Kojima H, Stokes W, Horii I, Hwan K.B. and Spielmann H : Peer Review Panel of the Japanese validation study of the ROS in vitro phototoxicity for ICH、日本動物実験代替法学会 第26回大会、平成25年12月19-21日、京都テルサ
 25. 加藤 義直、山本 直樹、佐藤 淳、中田 悟、小島 肇：不死化ヒト角膜上皮細胞株 (iHCE-NY) を用いた三次元角膜再構築モデルの作製、日本動物実験代替法学会 第26回大会、平成25年12月19-21日、京都テルサ

26. 古川 正敏、榊原 隆史、六川 潤美、伊藤浩太、佐々木 啓、平賀 武夫、小島 肇、松浦 正男：牛角膜を用いた混濁度および透過性試験法（BCOP 法）における被験物質の濃度および曝露時間の影響、日本動物実験代替法学会 第26回大会、平成25年12月19-21日、京都テルサ
27. 大森 崇、簾内 桃子、池田 英史、中村香織、鄭 美淑、山影 康次、萩野 滋延、小島 肇：SIRC-CVS 試験を用いた眼刺激性評価代替法の国際バリデーショナル研究（II）、日本動物実験代替法学会 第26回大会、平成25年12月19-21日、京都テルサ
28. 小島 肇、Nicole Kleinstreuer、Chae-Hyung Lim、寒水 孝司、渡辺 美香、新妻 健、山下 邦彦、福田 隆之、山口 典子、藤原 聖、山口 宏、竹澤 俊明：Vitrigel-EIT (Eye Irritancy Test) 法のプレバリデーショナル研究、日本動物実験代替法学会 第26回大会、平成25年12月19-21日、京都テルサ
29. 成田和人、石原有人、小島 肇、板垣宏：培養細胞を用いた試験における難水溶性物質の暴露方法の検討、日本動物実験代替法学会 第26回大会、平成25年12月19-21日、京都テルサ
30. 古川 正敏、榊原 隆史、六川 潤美、伊藤 浩太、佐々木 啓、平賀 武夫、小島 肇、松浦 正男：牛角膜を用いた混濁度度および透過性試験法（BCOP法）における病理組織学的検査、第30回日本毒性病理学会総会および学術集会、平成26年1月30、31日、あわぎんホール（徳島）
31. Atsushi Ono, Mutsuko Hirata-Koizumi, Ryota Ise, Hirohito Kato, Takashi Matsuyama, Makoto Ema and Akihiko Hirose :Gender-related difference in the toxic susceptibility of rats to an ultraviolet absorber, 2-(2'-hydroxy-3',5'-di-tert-butylphenyl)benzotriazole: a role of peroxisome proliferator-activated receptor (PPAR) alpha. 2013, *49th Congress of the European Societies of Toxicology*
32. Atsushi Ono, Mika Takahashi, Kaoru Yabe, Hina Kato, Tomoko Kawamura, Mariko Matsumoto, Mutsuko Hirata-Koizumi and Akihiko Hirose :The Japanese existing chemical safety survey program : Reproductive toxicity of 3-cyanopyridine in rats.. 2013, *XIII International Congress of Toxicology (ICT2013)*
33. 花房 弘之、森川 裕二、上原 健城、兼藤 雅子、小野 敦、山田 弘、大野 泰雄、漆谷 徹郎：マルチプレックス免疫アッセイによるラット肝障害時のサイトカイン変動解析. 2013, *第40回日本毒性学会学術年会*
34. 小野 敦、平田 睦子、加藤 寛人、伊勢良太、広瀬 明彦 彦 :2-(2'-Hydroxy-3',5'-di-tert-butylphenyl)benzotriazoleによる肝毒性メカニズムのトランスクリプトーム解析. 2013, *第40回日本毒性学会学術年会*
35. 大村 功、森川 裕二、上原 健城、林 仁美、三森 国敏、南 圭一、神吉 将之、小野 敦、山田 弘、大野 泰雄、漆谷

- 徹郎 :肝発がんにおけるDNAメチレーションと遺伝子発現の関連. 2013,第40回日本毒性学会学術年会
36. 中根 史行, 八舟 宏典, 盛田 怜子, 板橋 恵, 赤根 弘敏, 小野 敦, 鈴木 和彦 and 渋谷 淳 :Diheptyl phthalate (DHP) のラット90日間混餌投与によって誘発された肝前がん病変における細胞周期とアポトーシス関連分子の発現解析. 2013,第40回日本毒性学会学術年会
37. 南 圭一, 上原 健城, 近藤 千晶, 大村 功, 神吉 将之, 堀之内 彰, 小野 敦, 山田 弘, 大野 泰雄, 漆谷 徹郎 :ラット腎におけるmiRNA発現と腎障害モデルにおける変動の比較検討. 2013,第40回日本毒性学会学術年会
38. 本間正充 : ICHガイドライン状況-遺伝毒性不純物 (M7) 日本環境変異原学会MMS研究会第62回定例会2013年5月長野県諏訪郡
39. 本間正充 : 医薬品中に含まれる遺伝毒性不純物の安全性評価 日本環境変異原学会 微生物変異原性試験研究会第49回定例会, 2013年6月 東京
40. 本間正充 : 医薬品開発における遺伝毒性予測とリスク評価 CBI学術講演会 2013年 東京
41. 本間正充 : Risk assessment and management of genotoxic impurities in pharmaceuticals (医薬品中の遺伝毒性不純物のリスク評価と管理) 第3回中国薬物毒理学会医薬品非臨床安全性評価研究フォーラム) 2013年7月 中国蘇州
42. 本間正充 : 遺伝毒性の予測とリスク評価 平成25年度国立医薬品食品衛生研究所シンポジウム 2013年7月
43. M. Honma: A New Strategy for Hazard and Risk Assessment of Genotoxic Impurities. 第6回遺伝毒性試験国際ワークショップ 2013年10月 ブラジル・イグアス
44. M. Honma: Risk Assessment and Management of Genotoxic impurities in Pharmaceuticals. 第11回国際環境変異原学会 2013年11月 ブラジル・イグアス
45. 森田健 : ECVAMワークショップ報告 Ames陽性のフォローアップとしてin vitro哺乳類細胞試験は利用可能か? 2013年、JEMS・MMS研究会 第62回定例会
46. Morita T, Kojima H, Hayashi M : General Principles of Chemical Selection for in vivo, Validation Studies, The International Symposium of the Center of Alternative Methods for Safety Evaluation of Cosmetics, July 2, 2013, COEX, Seoul, Korea.
47. Morita T, Hatano A, Honma M: Effects of Reduction of the Top Concentration Limit Used in the In Vitro Chromosomal Aberration Test, 2013, 49th Congress of the European Societies of Toxicology.
48. Hamada S, Ohyama W, Takashima R, Shimada K, Matsumoto K, Kawakami S, Uno F, Matsumoto H, Nakai T, Imamura T, Matsumura S, Sanada H, Inoue K, Muto S, Ogawa I, Hayashi A, Takayanagi T, Ogiwara Y, Maeda A,

- Okada E, Terashima Y, Takasawa H, Narumi K, Wako Y, Kawasaki K, Morita T, Kojima H, Honma M, Hayashi M: Evaluation of Repeated Dose Liver and Gastrointestinal Tract Micronucleus, Assay with 22 Chemicals Using Young Adult Rats (III): Summary of Collaborative Study by CSGMT/JEMS.MMS, 2013, Environmental Mutagenesis and Genomics Society, 44th Annual Meeting.
49. Takeshi Morita: Micronucleus test other than bone marrow/peripheral blood and liver, 2013, 6th International Workshop on Genotoxicity Testing.
50. Morita T, Hatano A, Honma M: New top concentration limit will not improve positive ratio in the in vitro chromosomal aberration test, resulting in small improvement of false positives, 2013, 11th International Conference on Environmental Mutagens.
51. Hamada S, Takashima R, Shimada K, Matsumoto K, Kawakami S, Uno F, Matsumoto H, Nakai T, Imamura T, Matsumura S, Sanada H, Inoue K, Muto S, Ogawa I, Hayashi A, Takayanagi T, Ogiwara Y, Maeda A, Okada E, Takasawa H, Narumi K, Ohyama W, Wako Y, Kawasaki K, Morita T, Kojima H, Hayashi M, Honma M: Evaluation of Repeated-Dose Liver Micronucleus Assay with 22 Chemicals Using Young Adult Rats, 2013, 11th International Conference on Environmental Mutagens.
52. 森田健、幡野晶子、本間正充：改訂 OECD TG で提案された最高上限濃度では偽陽性の削減は期待できない、2013 年、日本環境変異原学会第 42 回大会
53. S Canipa, A Cayley, W Drewe, R V Williams, S Hamada, A Hirose, T. Morita, M Honma: Using Existing In Vitro Structural Alerts For Chromosome Damage To Predict In Vivo Activity And Direct Future Testing, 2013 年、日本環境変異原学会第 42 回大会
54. Makoto Hayashi: JACVAM Comet Validation and OECD Guidelines, International validation of the in vivo comet assay, Workshop on “Scientific and Regulatory Advances in Genetic Toxicology Safety Assessment”, 2013, 52th Society of Toxicology (SOT).
55. Tateno, C., Ishida, Y., Kakuni, M., Fukumuro, M., Tanaka, J., Masumori, S., Nakajima, M., and Hayashi, M. : Establishment of the Comet Assay and Micronucleus Test Using Chimeric PXB-Mice with Humanized Liver, 2013, 52th Society of Toxicology (SOT).
56. Ito, K., Masumori, S., Nakajima, M., Hayashi, M., Sakakibara, H., and Shimoi, K. : Different Micronucleus Inductions of Mice Exposed to N-Ethyl-N-Nitrosourea at Light and Dark dosing Times, 2013, 52th Society of Toxicology (SOT).
57. Yamada, T., Abe, T., Hasegawa, Y.,

- Sakuratani, Y., Yamada, J., Yamashita, T., Yamazoe, Y., O. Mekenyan, Hirose, A., and Hayashi, M.: Development of Hazard Evaluation Support System (HESS) and the Attached Database (HESS DB) for Repeated-Dose Toxicity of Chemical Substances, 2013, 52th Society of Toxicology (SOT).
58. Takashima, R., Hamada, S., Shimada, K., Matsumoto, K., Kawakami, S., Tanaka, J., Matsumoto, H., Nakai, T., Imamura, T., Matsumura, S., Sanada, H., Terashima, Y., Inooue, K., Mutou, S., Hagio, S., Hayashi, A., Takayanagi, T., Ogiwara, Y., Maeda, A., Narumi, K., Wako, Y., Morita, T., Kojima, H., Hayashi, M., and Honma, M.: Evaluation of Repeated dose Liver Micronucleus Assay in Rats: Summary of Collaborative Study by CSGMT/JEMS-MMS, 2013, 52th Society of Toxicology (SOT).
59. Makoto Hayashi, Douglas Wolf, Shoji Fukushima, Angelo Moretto, Jun Sekizawa, Atsuko Kishimoto, Alan Boobis : Initiate Global Dialogue to Innovate Risk Assessment, 2013, HESI Workshop, Risk Assessment in the 21st Century.
60. 伊藤圭一、山口明子、向井大輔、中嶋圓、林 真、榊原啓之、下居香代子：時間生物学的視点を考慮した遺伝毒性試験、2013年、第40回日本毒性学会
61. 櫻谷裕企、山田隆志、池永裕、山田隼、太田聡、林 真：有害性評価支援システム統合プラットフォーム (HESS) I. 運用状況、2013年、第40回日本毒性学会
62. 山田隆志、長谷川隆一、櫻谷裕企、山田隼、吉成浩一、山添康、広瀬明彦、林 真：有害性評価支援システム統合プラットフォーム (HESS) II. 収載データの解析：NOELの分布・発現毒性・カテゴリー化に必要な機序的情報について、2013年、第40回日本毒性学会
63. Tanaka, J., Siga, A., Ueda, M., Masumori, S. and Hayashi, M. : Evaluation of Pathological Specimens Obtained From Comet Assay Validation Studies, 2013, 11th International Conference on Environmental Mutagens.
64. Makoto Hayashi : Scientific opinion on safety testing of a finished product for genotoxicity (clastogenicity), 2013, The 2nd Asia Safety Experts Workshop.
65. 林 真：化学物質の安全性評価における代替法の役割、2013年、日本動物実験代替法学会第26回大会
66. 山田隆志、田中雄四郎、長谷川隆一、櫻谷裕企、山田隼、吉成浩一、山添康、小野敦、広瀬明彦、林 真：未試験化学物質の反復投与毒性の予測に有用な in vitro 試験の提案、2013年、日本動物実験代替法学会第26回大会
67. 渡辺美香、小林美和子、奥富弘子、新藤智子、熊谷文明、斉藤義明、山影康次：ヒト3次元培養表皮モデルを用いた皮膚刺激性試験による低刺激性物質検出法の検討、2011年、第38回日本トキシコロジー学会学術大会
68. 豊泉友康、太田 亮、川上久美子、中

- 川ゆづき、田面喜之、桑形麻樹子、野口 聡、須井 哉、山影康次：ヘアレスマウスを用いた皮膚コメット・小核コンビネーション試験の検討、2011年、第40回日本環境変異原学会大会
69. 中川ゆづき、豊泉友康、野口 聡、千坂亜希子、齋藤義明、太田 亮、山影康次：帯電微粒子水のマウス肺 in vivo コメットアッセイ、2011年、第40回日本環境変異原学会大会
70. 山影康次：化学物質の安全性評価：遺伝毒性としての染色体異常試験、2012年、染色体学会第63回（2012年度）年会主催 市民公開講座
71. 高橋俊孝、中川ゆづき、豊泉友康、田島恵理、西村哲治、本間正充、山影康次：カーボンナノチューブのCHL/IU培養細胞を用いた染色体異常試験（その2）、2012年、第41回日本環境変異原学会大会
72. 山影康次、高橋俊孝、生悦住 茉友、須井 哉、川上久美子、松本浩孝、豊泉友康、根岸沙記、古田雅一：放射線照射によるトリグリセリド分解生成物（2-アルキルシクロブタン類）の遺伝毒性および発がん性、2012年、第41回日本環境変異原学会大会
73. 木村 裕、渡辺美香、齋藤るみ子、鈴木紀之、岩城知子、金子 愛、高田めぐみ、田中裕美、渡辺 文、山影康次、齋藤幸一、中島芳浩、近江谷克裕、酒井綾子、大森 崇、山崎晶次郎、小島 肇、田中憲穂、相場節也：IL-8 Luc assay の施設間差試験-Phase I, Phase IIaの結果ならびに今後の展望-、2012年、第25回日本動物実験代替法学会
74. 渡辺美香、小林美和子、生悦住茉友、山影康次：LabCyte EPI-Modelを用いたJIS L 1918 繊維製品の皮膚一次刺激性試験、2012年、第25回日本動物実験代替法学会
75. 簾内桃子、福田隆之、池田英史、鄭 美淑、大森 崇、5 田中裕美、山影康次、萩野滋延、小島 肇：SIRC-CVS 試験を用いた眼刺激性評価代替法の国際バリデーション研究(I)、2012年、第25回日本動物実験代替法学会
76. 大森崇、簾内桃子、中村香織、池田英史、鄭美淑、山影康次、萩野滋延、小島肇：SIRC-CVS 試験を用いた眼刺激性評価代替法の国際バリデーション研究 (II)、2013年、第26回日本動物実験代替法学会
77. 丸谷あおい、相場節也、木村裕、渡辺美香、鈴木紀之、岩城知子、山影康次、齋藤幸一、中島芳浩、近江谷克裕、山崎晶次郎、小島肇、田中憲穂、小林眞弓、森梓、大森崇：IL-8 Luc assay におけるばらつきを考慮した判定基準の提案、2013年、第26回日本動物実験代替法学会
78. 木村裕、藤村千鶴、渡辺美香、齋藤るみ子、鈴木紀之、岩城知子、山影康次、齋藤幸一、中島芳浩、近江谷克裕、酒井綾子、丸谷あおい、大森崇、山崎晶次郎、小島肇、田中憲穂、相場節也：IL-8 Luc assay の施設間差試験およびデータセットの作製、2013年、第26回日本動物実験代替法学会

79. 栗忍、斉藤るみ子、佐々木澄志、権藤麻衣子、遠藤伸子、須井哉、山影康次：フィーダー細胞の違いによるCell-able™プレート上のマウス初代肝細胞スフェロイドにおける肝機能の検討、2013年、第26回日本動物実験代替法学会
- G-2. 発表論文
1. 小島 肇夫：技術講座 安全性評価試験 (18) 遺伝毒性試験ー組合せ、COSME TECH JAPAN, 3 (4) 74-77 (2013)
 2. 小島 肇夫：経皮吸収型製剤の安全性を考える、ファルマシア、49(5)、415-419 (2013)
 3. 小島 肇夫：技術講座 安全性評価試験 (19) 遺伝毒性試験ーエイムス試験、COSME TECH JAPAN, 3 (5) 82-85 (2013)
 4. 小島 肇夫：動物実験代替安全性試験プロトコル集、シーエムシー出版、3-10 (2013)
 5. 小島 肇夫：技術講座 安全性評価試験 (20) 遺伝毒性試験ー哺乳類の培養細胞を用いる試験、COSME TECH JAPAN, 3 (6) 72-77 (2013)
 6. 小島 肇夫：機能性化粧品と薬剤デリバリー、シーエムシー出版、22- 27 (2013)
 7. Kojima H, Hayashi K, Sakaguchi H, Omori T, Otoizumi T, Sozu T, Kuwahara H, Hayashi T, Sakaguchi M, Toyoda A, Goto H, Watanabe S, Ahiko K, Nakamura T, Morimoto T. : Second-phase validation study of short time exposure test for assessment of eye irritation potency of chemicals., Toxicology In Vitro, 27(6), 1855-69 (2013)
 8. 小島 肇夫：技術講座 安全性評価試験 (21) 遺伝毒性試験ーげっ歯類を用いる小核試験、COSME TECH JAPAN, 3 (7) 116-120 (2013)
 9. 小島 肇夫：技術講座 安全性評価試験 (22) ウサギを用いる眼刺激性試験、COSME TECH JAPAN, 3 (8) 67-71 (2013)
 10. 小島 肇夫：化粧品・医薬部外品およびその原料の安全性評価と規格・試験法設定、サイエンス&テクノロジー、29-65 (2013)
 11. Yamaguchi H, Kojima H, Takezawa T : Vitrigel-Eye Irritation Test Method using HCE-T cells, Toxicological Sciences, 135(2), 347-55 (2013)
 12. 小島 肇夫、技術講座 安全性評価試験 (23) 実験動物を用いる皮膚刺激性試験、COSME TECH JAPAN, 3 (9) 81-84 (2013)
 13. 小島 肇夫：In vitro 毒性・動態評価の最前線、シーエムシー出版、1-7 (2013)
 14. Kojima H, Kato M, Shinoda S, Hagiwara S, Suzuki T, Izumi R, Yamaguchi Y, Nakamura M, Kasahawa T and Shibai A : A catch-up validation study of an in vitro skin irritation test method using reconstructed human epidermis LabCyte EPI-MODEL24, Journal of Applied Toxicology, (2013)
 15. 小島 肇夫：技術講座 安全性評価試験 (24) 実験動物を用いる連続皮膚刺

- 激性試験、COSME TECH JAPAN, 3 (10) 22-25 (2013)
16. 小島 肇夫：技術講座 安全性評価試験 (25) 実験動物を用いる皮膚一次刺激性試験、COSME TECH JAPAN, 3 (11) 36-39 (2013)
 17. 小島 肇夫：日本動物実験代替法学会バリデーション委員会と JaCVAM、日本動物実験代替法学会 第 25 回大会記念誌、27-34 (2013)
 18. 小島 肇夫：経皮吸収性の試験法と評価法、株式会社 情報機構、1-54 (2013)
 19. 小島 肇夫：技術講座 安全性評価試験 (26) 実験動物を用いない眼刺激性試験、COSME TECH JAPAN, 3 (12) 44-48 (2013)
 20. Stokes W, Srinivas G, McFarland R, Kulpa-Eddy J, Casey W, Walker A, Draayer H, Sebring R, Brown K, Balks E, Stirling C, Klaasen E, Hill R, Ripcke B, Ruby K, Alt D, Mukhopadhyay S, Kojima H, Johnson N, Rinckel L, Doelling V, Jones B. : Report on the international workshop on alternative methods for Leptospira vaccine potency testing: state of the science and the way forward., Biologicals, 41 (5), 279-94 (2013)
 21. Onoue S, Hosoi K, Toda T, Takagi H, Osaki N, Matsumoto Y, Kawakami S, Wakuri S, Iwase Y, Yamamoto T, Nakamura K, Ohno Y, Kojima H : Intra-/inter-laboratory validation study on reactive oxygen species assay for chemical photosafety evaluation using two different solar simulators., Toxicology In Vitro, 28(4), 515-523 (2013)
 22. Kojima H:-Update from the Japanese Center for the Validation of Alternative Methods (JaCVAM)., Alternatives to Laboratory Animals, 41(6), 435-441(2013)
 23. 小島 肇夫：技術講座 安全性評価試験 (27) 生殖毒性試験、COSME TECH JAPAN, 4 (1) 70-74 (2014)
 24. 小島 肇夫：技術講座 安全性評価試験 (28) 動物実験代替法を巡る動向 2013年、COSME TECH JAPAN, 4 (2) 36-42 (2014)
 25. 小島 肇夫：動物実験代替法を用いた「これからの化粧品・医薬部外品の安全性評価とその根拠の示し方」、COSMETIC STAGE、8 (3) 1-8 (2014)
 26. 小野 敦 他 26 名,. 動物実験代替安全性試験プロトコル集(監修;小島肇夫) 第 18 章 BG1Luc 細胞を用いるエストロゲン受容体転写活性化試験法. pp.228-242, シーエムシー出版 (東京) .2013.
 27. 小野 敦 他 34 名,. (2013).バイオテクノロジーシリーズ:*In vitro* 毒性・動態評価の最前線 (監修 ; 小島肇夫) 第 3 章 化学物質の内分泌かく乱性の予測評価.pp.29-35, シーエムシー出版 (東京) .2013.
 28. M. Matsumoto, M. Yamaguchi, Y. Yoshida, M. Senuma, H. Takashima, T. Kawamura, H. Kato, M. Takahashi, M. Hirata-Koizumi, A. Ono, K. Yokoyama and A. Hirose (2013) An antioxidant, N,N'-diphenyl-p-phenylenediamine

- (DPPD), affects labor and delivery in rats: a 28-day repeated dose test and reproduction/developmental toxicity test. *Food Chem Toxicol* **56**, 290-296.
29. M. Takahashi, K. Yabe, H. Kato, T. Kawamura, M. Matsumoto, M. Hirata-Koizumi, A. Ono and A. Hirose (2013) Reproductive and developmental toxicity screening test of 3-cyanopyridine in rats. *Reprod Toxicol* **35**, 7-16.
 30. 本間正充 安全性に関するトピックの動向 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 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス**44**, 1010-1015 (2013)
 31. Horibata K, Ukai A, Kimoto T, Suzuki T, Kamoshita N, Masumura K, Nohmi T, Honma M. Evaluation of in vivo genotoxicity induced by N-ethyl-N-nitrosourea, benzo[a]pyrene, and 4-nitroquinoline-1-oxide in the Pig-a and gpt assays. *Environ Mol Mutagen.* **54**, 747-754 (2013)
 32. Kimura A, Miyata A, Honma M. A combination of in vitro comet assay and micronucleus test using human lymphoblastoid TK6 cells. *Mutagenesis.* **28**, 583-90 (2013)
 33. Stefan Pfuhrer, Rosalie Elespuru, Marilyn Aardema, Shareen H. Doak, E. Maria Donner, Masamitsu Honma, Micheline Kirsch-Volders, Robert Landsiedel, Mugimane Manjanatha, Tim Singer, James H. Kim, Genotoxicity of Nanomaterials: Refining Strategies and Tests for Hazard Identification. *Environment Mol. Mutagen.* **54**, 229-239 (2013)
 34. Kimoto T, Horibata K, Chikura S, Hashimoto K, Itoh S, Sanada H, Muto S, Uno Y, Yamada M, Honma M. Interlaboratory trial of the rat Pig-a mutation assay using an erythroid marker HIS49 antibody. *Mutation Research*, **755**, 126-34 (2013)
 35. Sassa A, Kamoshita N, Matsuda T, Ishii Y, Kuraoka I, Nohmi T, Ohta T, Honma M, Yasui M, Miscoding properties of 8-chloro-2'-deoxyguanosine, a hypochlorous acid-induced DNA adduct, catalysed by human DNA polymerases, *Mutagenesis* **28**, 81-88 (2013)
 36. 本間正充: 第II編 薬物評価におけるin silico手法の活用, 第4章 変異原性の予測—医薬品中に存在する不純物の評価—「In vitro毒性・動態評価の最前線」シーエムシー出版 (小島肇夫監修) 2013年
 37. Hironao Takasawa, Rie Takashima, Akiko Hattori, Kazunori Narumi, Kazufumi Kawasaki, Takeshi Morita, Makoto Hayashi, Shuichi Hamada, Development of a repeated-dose liver micronucleus assay using adult rats (II): Further investigation of 1,2-dimethylhydrazine and 2,6-diaminotoluene, *Mutation Research*, **2013**, 751: 12-18.
 38. Yoshida M, Suzuki D, Matsumoto K, Shiota M, Inoue K, Takahashi T, Morita T, Ono A: Simulation of acute

- reference dose (ARfD) settings for pesticides in Japan. *J Toxicol Sci.*, 2013, 38: 205-214.
39. 吉田緑、鈴木大節、松本清司、代田眞理子、井上薫、高橋美和、森田健、小野敦、日本における農薬等の急性参照用量設定の基本的考え方、*食品衛生学雑誌*, 2013, 54: 331-334.
40. M. Hayashi, M. Honma, M. Takahashi, A. Horibe, J. Tanaka, M. Tsuchiya, T. Morita: Identification and evaluation of potentially genotoxic agricultural and food-related chemicals, 2013 Food Safety Commission, Cabinet Office, Government of Japan, ONLINE ISSN: 2187-8404, <http://dx.doi.org/10.14252/foodsafetyfs.cj.2013003>, *Food Safety*, 2013, 1: 3-15.
41. Takasawa, H., Takashima, R., Hattori, A., Narumi, K., Kawasako, K., Morita, T., Hayashi, M., Hamada, S. : Development of a repeated-dose liver micronucleus assay using adult rats (II): Further investigation of 1,2-dimethylhydrazien and 2,6-diaminotoluene, *Mutation Research*, 2013, 751: 12-18.
42. Yamada, T., Tanaka, Y., Hasegawa, R., Sakuratani, Y., Yamada, J., Kamata, E., Ono, A., Hirose, A., Yamazoe, Y., Makenyan, O., Hayashi, M. : A Category approach to predicting the repeated-dose hepatotoxicity of allyl esters, *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2013, 65: 189-195.
43. Sakuratani, Y., H.Q.Zhang, Nishikawa, S., Yamazaki, K., Yamada, T., Yamada, J., Gerova, K., G. Chankov, O. Mekenyan and Hayashi, M. : Hazard Evaluation Support System (HESS) for predicting repeated dose toxicity using toxicological categories, SAR and QSAR in *Environmental Research*, 2013, 1080/1062936X .
44. Ema, M., Masumori, S., Kobayashi, N., Naya, M., Endoh, S., Maru, J., Hosoi, M., Uno, F., Nakajima, M., Hayashi, M. and Nakanishi, J.: In vivo comet assay of multi-walled carbon nanotubes using lung cells of rats intracheally instilled, *J. Appl. Toxicol.*, 2013, 33: 1053-1060.
45. Toyozumi T, Ohta R, Nakagawa Y, Tazura Y, Kuwagata M, Noguchi S, Yamakage K.: Use of the in vivo skin comet assay to evaluate the DNA-damaging potential of chemicals applied to the skin. *Mutat Res.*, 726(2):175-80 (2011)
46. 柘植英哉、森充生、大庭澄明、大内正、寺田三郎、五島隆志、田邊豊重、山影康次、田中憲穂、渡辺美香、畔上二郎、大向英夫、小島肇：平成21年度「日本薬局方の試験法に関する研究」研究報告、輸液用ゴム栓試験法の見直し（第4報）—細胞毒性試験法の検討—、*医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス*, 43(5), 473-482 (2012)
47. Toyozumi T, Ohta R, Kawakami K, Nakagawa Y, Tazura Y, Kuwagata M, Noguchi S, Sui H, Yamakage K.: