

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
総合分担研究報告書

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

分担研究者 小島 肇
国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨

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 (TG) 案を経済協力開発機構 (OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development) に提出し、承認させることを目指す。その過程を経て、日本における継続的な TG の公定化システムを構築することを目的としている。

当該試験法としては、以下に示すバリデーションが終了した試験法において、バリデーション報告書等の資料を用意し、国際的な第三者評価を行い、TG を目指す過程で手法を検討した。1) 遺伝毒性試験 *in vivo* コメットアッセイ、2) *in vitro* 皮膚感作性試験 ヒト樹状細胞株を用いた検出法 (h-CLAT)、3) *in vitro* 発癌性スクリーニング Bhas 42 形質転換試験 (Bhas 法)、4) 眼刺激性試験 短時間曝露法 (STE 法) である。

結果として、本年、*in vivo* コメットアッセイを OECD TG489 として承認させることができた。さらに、TG 案として h-CLAT、Bhas 法および STE 法について検討を進め、来年度の成立を目指すとともに、TG 公定化のための継続的なシステムを提案した。

キーワード：遺伝毒性試験、コメットアッセイ、形質転換試験、皮膚感作性試験、眼刺激性試験、代替法、バリデーション、第三者評価

分担研究者及び協力研究者の氏名・所属機関名		情報部 室長
及び所属機関における職名	山影 康次	食品薬品安全センター 秦野研究所 部長
宇野 芳文 田辺三菱製薬株式会社 研究本部		
安全性研究所 第一部長	佐々木澄志	食品薬品安全センター 秦野研究所
林 真 食品医農薬安全評価センター		
センター長 (副理事長)	田中 憲穂	食品薬品安全センター 秦野研究所
森田 健 国立医薬品食品衛生研究所 安全		研究所および鳥取県産業振興財団

足利 太可雄 資生堂株式会社
品質保証センター
坂口 齊 株式会社 花王
安全性評価研究所 室長
宮澤正明 株式会社 花王 安全性評価研
究所
吉村 功 東京理科大学 名誉教授
大森 崇 同志社大学文化情報学部 准教
授

A. 研究目的

経済協力開発機構（OECD：Organisation for Economic Co-operation and Development）ガイダンス文書（GD: Guidance Document）No.34によれば¹⁾、新規試験法が行政的に受け入れられるためには、バリデーションを行い、施設間・施設内再現性を確認するとともに、予測性を明確にする必要がある。その後、バリデーションに関与しなかった専門家による第三者評価が必要となる。

本研究班ではバリデーションが終了した試験法が試験法ガイドラインとして行政的に受け入れられるよう、国際的な専門家による第三者評価（peer review: 第三者評価）を円滑に実施し、OECD 試験法ガイドライン（Test Guideline: TG）として成立させることを目指している。

該当する試験法としては、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) 皮膚感作性試験 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）が挙げられる。本研究では、これらの過程を通して、国際的な第三者評価システムを解析し、それを参考に日本における継続的な TG の公定化システムを確立することを目指している。

B. 研究方法

動物実験の 3Rs(Reduction, Refinement,

Replacement) に考慮しつつ、日本で開発され、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公定化するために、以下の試験法について検討した。

B-1) コメットアッセイ

本試験法は、厚生労働科学研究補助金事業(化学物質リスク研究事業：代表者 大野泰雄)の支援を受け²⁾、以下に示す組織によるバリデーションが平成 18 年 8 月に開始され、実験は平成 24 年 4 月に終了した。

Phase I から IV-2 に至るバリデーションが実施された。Phase III までで、プロトコルが固められ、phase IV-1 では施設内・施設間再現性が確認され、最終的な phase IV-2 では、合計 40 の被験物質を 14 施設に配布し、予測性が検討された。

B-1-1) 国内バリデーション実行委員会

委員長 林 真(安評センター)
委員 宇野芳文（田辺三菱製薬株式会社）
浅野哲秀（元・日東電工株式会社）
中嶋 圓（安評センター）
森田 健（国立衛研 医薬安全科学部）
本間正充（国立衛研 変異遺伝部）
小島 肇（国立衛研 薬理部）

B-1-2) OECD 専門家による第三者評価と TG 案の協議

日本のバリデーション結果をもとに作成された TG 案を用いて、OECD の専門家により第三者評価および TG の議論がなされた。その後、平成 26 年 4 月に開催されたナショナルコーディネーター作業グループ（WNT: Working Group of the National Coordinators of the Test Guidelines Programme）において議論がなされた。

B-2) 形質転換試験 Bhas42 アッセイ（Bhas 法）

本試験は、独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構（NEDO）の支援を受けて開

発された。平成 21 年 1 月にバリデーションが開始され、実験は平成 23 年 9 月に終了し、バリデーション報告書がまとめられた³⁾。

B-2-1)ECVAM による第三者評価

(EURL ECVAM : European Union Reference Laboratory for alternatives to animal testing : 欧州動物実験代替法評価センター) 科学諮問会議

(ESAC : EURL ECVAM Scientific Advisory Committee) にて選ばれたワーキンググループにより第三者評価が実施され、評価報告書がまとめられた。日本から筒井健機氏 (日本歯科大) が協力した。

B-2-2) TG 案の協議

日本のバリデーション結果をもとに作成された TG 案をもとに、OECD の専門家間で議論が進んだ。

B-3) 皮膚感作性試験 h-CLAT

本試験法は、ESAC におけるバリデーションが実施された。平成 22 年～平成 25 年に掛けて実施された⁴⁾。厚生労働科学研究補助金事業(医薬品・医療機器総合研究事業 : 代表者 大野泰雄)でも日本の参加施設 (資生堂および花王) への支援を行ってきた。本バリデーションの終了を受け、日本の統計学者にデータ解析の依頼があったことから、以下に示す組織を構築した。

B-3-1) 国内バリデーション組織

吉村 功	東京理科大学
大森 崇	同志社大学文化情報学部
足利 太可雄	資生堂株式会社
坂口 斉	株式会社 花王
小島 肇	国立衛研 薬理部

B-3-2)第三者評価と TG 案の協議

ESAC による第三者評価は平成 25 年夏より実施された。日本からの協力者はいない。並行して国内バリデーション組織が EURL ECVAM の専門家とともに、TG 案を作成した。

B-4) 眼刺激性試験 短時間曝露法 (STE 法)

本試験法は、日本動物実験代替法学会において、施設内・施設間再現性を確認するためのバリデーションが平成 20 年から開始された。さらに、厚生労働科学研究補助金事業(医薬品医療機器総合研究事業 : 代表者 小島 肇) の支援を受け⁵⁾、予測性を検討する追加バリデーションが実施され、平成 22 年 11 月に終了した。バリデーション報告書に加え、背景評価報告書を厚生労働科学研究委託事業において、花王とともに作成した。

B-4-1)ICCVAM (米国動物実験代替法に関する省庁間連絡会議) による第三者評価

日本のバリデーション結果のみならず、花王の背景データまで加えた事前資料を用い、第三者評価が実施された。日本から、山影康次氏 (食薬センター) が協力した。

B-4-2) TG案の協議

日本のバリデーション結果をもとに作成された TG案を用いて、OECDの専門家間で議論が進んだ。

B-5)TG公定化システムの構築

B-5-1)国際第三者評価の比較検証

平成25年度実施されたコメントアッセイ、Bhas法およびSTE法に関する第三者評価の実施システムを解析した。

B-5-2) TG公定化システムの構築

これまでの他のバリデーションセンターにおける第三者評価やTG作成の経験をもとに、日本における最適なTGの公定化システムを検討した。

(倫理面への配慮)

倫理的な問題が生じる実験を実施しておらず、特に配慮すべき問題はない。

C. 研究結果

C-1) コメットアッセイ

バリデーション実行委員会を中心にバリデーション報告書がまとめられ、平成24年8月末までにOECDにバリデーション報告書を提出した^{6,7)}。

バリデーション実行委員会は、以下のような結論を出している。

「コメットアッセイバリデーション研究の結果、明らかな偽陽性結果がなく、標準化されたプロトコルおよびデータ採用基準を用い、% tail DNA 値を測定することにより有益な結果を得ることができる。」

平成24年9月にOECDにて開催されたコメットアッセイ専門家会議にて、このバリデーション報告書を中心に議論がなされ、種々の点で修正の指摘を受けた。これを受け、改訂版を平成25年1月にOECDに提出した。

日本のバリデーション結果をもとに作成された評価報告書が平成26年1月に公開された⁸⁾。以下に概要を示す。

第三者評価パネルは、バリデーションのデータは十分であり、このバリデーションにより、*in vivo* コメットアッセイのプロトコルが改良され、TGの開発を促したと結論した。

ただし、バリデーションの範囲は、実験された臓器、種、性に限定される。バリデーション実験はTGの広範な範囲を適用できないので、パネルは文献データからラット以外の種や、雄以外の性の結果を調べ、TGに反映させることを検討した。

この試験法のバリデーション基準は一部を満たしているが、以下の追加情報が必要であることに全パネルが同意した。

- ・施設内/施設間再現性
- ・施設間で観察されたばらつきを減らすため、および施設内再現性を上げるため、平均か中央値どちらを用いるかの確認
- ・バリデーションで用いられなかった、十分に評価されなかった物質の解析による適用限界の

設定

- ・他の臓器やマウス、雌に関する範囲の拡大
- ・作用機構の記載

OECDの専門家による第三者評価報告書²⁾および日本のバリデーション結果^{3,4)}をもとに作成されたTG案を用いて、議論がなされたが、第三者評価パネルからの提案を受け、バリデーションの結果以外の、種々の条件（性差、匹数、観察細胞数など）が追加された。このTG案について専門家間で合意が得られ、平成26年4月に開催されたWNTにおいてTG489として承認された（添付資料1⁹⁾）。

C-2) 形質転換試験 Bhas 法

田中らにより、バリデーション報告書が平成24年7月にまとめられ¹⁰⁾、EURL ECVAMに提出した。9~11月に掛け、第三者評価がESACにおいて実施された。

日本のバリデーション結果をもとに作成された評価報告書およびEURL ECVAMの推薦書が平成25年11月に発行された¹¹⁾。概要を以下に示す。

2011年に食品薬品安全センター秦野研究所（FDSC）は発がん性試験であるBhas形質転換試験（Bhas法）のバリデーション研究を終了した。Bhas法のバリデーションは、2つの類似の試験法プロトコル（6ウェル法および96ウェル法）で実施された。バリデーションはNEDOの資金および、JaCVAMの支援により実施された。JaCVAMの要請により、EURL ECVAMがESACによるreviewを2012年12月に終了した。ESAC以下のような推奨を行った。

- 1) すでにバリデートされた*in vitro* 形質転換試験と同様に¹²⁾、Bhas法は、化学物質の発がん性の可能性を予測することを目的としている。バリデーションと他の公開物をもとに、両プロトコルとも標準化されており、技術移転性、施設間再現性、発がん予測性も十分と考察された。さらに、Bhas法は腫瘍イニシエーターかプロモ-

ターかの情報も提供できる。

- 2) 発がん作用機構の複雑さおよび*in vitro*の本質的な限界 (*in vitro*モデルおよび代謝能の限界など)を考慮すると、Bhas法のみでは使用できず、他の情報と併せて有害性評価を行うべきである。形質転換試験法は、化学物質の分類や既存情報の利用など、証拠の重さ (Weight of Evidence : WoE) アプローチ や試験の組み合わせ戦略 (Integrated Testing Strategy : ITS)で評価されるべきである。
- 3) 行政的な状況および試験実施に関わらず他の情報に依存して、形質転換試験により集められた化学物質に関する情報は、政策決定にとっても充分であり、動物実験を避ける特異な例につながる可能性もある。しかし、形質転換試験データの利用および関連性は、今後も変わりうる可能性がある。それゆえ、他の形質転換試験と同様、他の情報が利用可能なら、Bhas法は発がん性の有害性同定およびリスク評価の動物実験を部分的な置き換え、または削減に寄与できると考えられる。
- 4) Bhas 法は、細胞株を用いているので、試験システムに必要とされる実験動物が不要であり、初代シリアンハムスター胎児細胞を用いる SHEアッセイのような他のバリデートされた形質転換試験 よりも 3Rsの観点から有益である。
- 5) Bhas法の96ウェルバージョンは、ハイスループットの開発につながる可能性がある。これをなすためには、自動的なイメージまたは転換細胞のスコア化が確立されねばならない。
- 6) Bhas法は、発がん可能性の評価に叶う信頼性と適性を持っており、WoE および ITSアプローチの中で有望である。EURL ECVAM はOECD TGとして、6ウェルおよび 96ウェルバージョンの両方が 開発されることを推奨する。
- 7) Directive 2010/63/EUの規定¹³⁾によれば、化学物質の発がん性評価のために動物実験に着手す

る前に、形質転換試験が動物実験を減らすか、避けるための補完情報が必要である。REACH規制のように、形質転換試験の行政的な利用とは異なるが、Bhas 法や他の形質転換試験 (例えば、SHE アッセイ)のような試験法のデータも、WoE判断に必要とされる標準情報として適用されるべきである。

日本で作成された TG 案は平成 25 年 9 月に OECD に提出された。OECD による第一次意見募集に対応して、TG 案を平成 26 年 1 月に改訂した。

形質転換試験に関する OECD 専門家による対面会議が平成 26 年 1 月に OECD 本部 (パリ) で開催され、改訂 TG 案に関する議論がなされた。本専門家会議では、Bhas 法の類似法である SHE アッセイを TG とすることに重点がおかれた。平成 26 年 4 月の WNT 会議で認められた SHE アッセイは TG ではなく、書面による手続きで GD となることが決まった。この GD の承認が遅れ、Bhas 法の TG または GD 案も影響を大きく受けた。平成 27 年度に Bhas 法を GD として成立させるため、GD 案を平成 27 年 2 月に OECD に提出した。

C-3)皮膚感作性試験 h-CLAT

EURL ECVAM より送付されてきたバリデーションデータを確認し、日本の統計学者が再検証し、報告書をまとめた。データ不備の指摘や、試験回数等の提言など有益な指摘がなされている。この報告書を受け、EURL ECVAM によりバリデーション報告書が作成された¹⁴⁾。

次に、EURL ECVAM による第三者評価報告書が作成された¹⁵⁾。

日本の専門家が作成した案に EURL ECVAM の担当者が加筆修正した TG 案は平成 26 年 6 月に OECD に送られた。この TG 案への意見募集は 8 月に始まり、10 月には各国の意見が送られてきた。この意見の中には、再現性が

乏しいという厳しいクレームが含まれていたこともあり、日欧の統計家で検討して頂いた。施設間再現性を統計解析により解決する手段を検討し、統計解析報告書および改訂 TG 案を平成 27 年 2 月に OECD に送った。

C-4) 眼刺激性試験 短時間曝露法 (STE 法)

短時間曝露法 (STE) は眼刺激性を検出する *in vitro* 試験である。本方法は、高橋ら¹⁶⁾により開発され、被験物質の 5 分間暴露を通してウサギ角層細胞株 (SIRC 細胞) の細胞毒性試験を評価する。2011 年 3 月、花王は背景評価報告書 (BRD) “Current Status of *In Vitro* Test Methods for Identifying Ocular Irritants: Short Time Exposure (STE) Test” を米国毒性プログラム (NTP) 動物実験代替法評価センターに提出した。NICEATM は BRD を初期評価し、追加情報を要求し、数回 BRD を改訂した (最終版 2012 年 5 月)。BRD は第三者評価に利用できる文献、花王の *in-house* データおよび正確性と再現性を評価するバリデーション報告書^{17,18)}に関するすべてのデータおよび情報を含む。この評価概要書は¹⁹⁾、STE 法の *in vivo* データと比較した正確度、特異度、偽陽性率、偽陰性率を示している。この評価は、眼刺激性の有害性を区分する Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS; UN 2011) および U.S. Environmental Protection Agency (EPA 2012) classification systems を基本としてトップダウンアプローチおよびボトムアップアプローチでなされた。トップダウンアプローチでは、STE 法はすべての有害性分類の中で、強い眼刺激性/腐食性を分類できた。他の追加試験を追加しないで、強い眼刺激性/腐食性を同定できると考えられた。ただし、トップダウンアプローチの偽陰性率は低かった。偽陰性率は分類に寄与しないが、その理由は、STE 法の陰性物質は他の試験法で補完されるからである。

対照的に、ボトムアップアプローチではすべて

の有害性分類の中から眼刺激性でない物質を分類する。ボトムアップアプローチで陽性の物質は、適切な有害性分類のためには追加試験が必要である。ボトムアップアプローチでは GHS 分類なしおよび EPA 分類 IV における誤った眼有害性同定を避けるため、低い偽陰性率が求められる。偽陽性率は分類に寄与しない。その理由は、陽性物質は他の試験法で補完されるからである。STE 法のボトムアップアプローチにおける偽陰性率は、GHS 分類 12.3% (9/73)、EPA 分類 24.7% (24/97) であり、他の追加試験法が必要である。適用限界が、ボトムアップアプローチにおいて GHS および EPA 分類の偽評価を減らすために検討された。

適用限界を見つめるため、化学物質の分類および物性で解析された。結果として、2 つの適用限界が提案された。一つは、蒸気圧 ≥ 6 kilopascals (kPa) の液体および固体のアルコール、炭化水素、塩を除くことであり、その解析により、GHS および EPA 分類それぞれで偽陰性率は 2% (1/49) および 21% (14/68) となった。二つ目は、蒸気圧 ≥ 6 kPa の液体および固体の界面活性剤である。GHS および EPA 分類それぞれで偽陰性率は 1.9% (1/54) および 18% (13/73) に減少した。

NICEATM では BRD の内容について数回に渡り意見交換を行った。BRD の中で、以下のような試験法の推奨を行った。

「STE 法は眼刺激性試験評価のための戦略の中で、トップダウンアプローチの最初の選択肢として推奨される。本試験法は偽陽性が少ないからである。一方、ボトムアップアプローチの最初の選択肢として利用する場合には、その適用限界を認識して利用すべきである。」

日本により作成された TG 案は平成 25 年 5 月に OECD に提出した。OECD による第一次意見募集が 7 月に、第二次意見募集が 12 月に実施された。OECD による第二次意見募集によるコメントを平成 26 年 2 月に受け取り、改訂版を 6 月に提出した。第三次意見募集が 8 月に実施され、それ

を受けた対面会議が11月にパリにて開催された。この会議にて、専門家の承認が得られ、12月に最後の意見募集に入った。この意見への対応を経て、平成27年4月のWNT会議でTG案の最終検討がなされることになった。

C-5) 公定化システムの構築

国際機関の協力を得て、第三者評価を実施し、h-CLATを除く試験法に関する評価報告書が完成した。いずれも優れた第三者評価報告書であるが、その進め方には一長一短がある。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。

効率的かつ迅速に試験法を国際的なTGにするために各バリデーションセンターの第三者評価の手法を調査し、OECD GD34をもとに検討した結果、以下の手順が重要であると結論した。

1) 国際的な専門家をバリデーション実行委員会に招聘し、試験法の定義付け、プロトコルの確認、被験物質の選択協力を要請する。参加施設は日本の施設だけとする。

2) バリデーションは技術移転性、再現性、予測性と少なくとも3回に分けて実施し、失敗の際の痛手を小さくする。

3) バリデーション終了後の報告書および論文作成は、実行委員会内で分担を決め、半年以内を目途に作成する。

4) バリデーションが終了次第、OECDに申請書およびバリデーション報告書を提出する。

5) 第三者評価は、国際的な専門家を招聘して日本人の専門家を含む5～6名で行い、報告書は開始から半年程で作成する。報告書の作成は外国人座長に委託する。

6) バリデーション報告書提出後、プロトコルをもとにTG案の作成を始める。

7) 第三者評価報告書とTG案を一緒にOECDに申請する。

8) 上記資料を検討するOECDの専門家会議が開催される場合には、開発者およびバリデーション関係者に参加して頂き、適切に対応する。

D. 考察

日本で開発された試験法のうち、*in vivo* コメットアッセイのTGをOECDや欧米の研究機関と協力して確立した。その過程を通じて、試験法開発における国際的な発言力を高めることができた。また、試験法の特性和限界が明らかになり、行政的試験法としての適正利用が可能となった。さらに、動物実験代替法として適切に評価された安全性試験法が導入されることにより、動物福祉を考慮しながら、化学物質の安全性評価をより効率的かつ高レベルに実施することができた。以上のように、日本で開発された試験法を国際的に受け入れられるOECDのTGとする過程を経て、日本の安全性評価レベルを世界にアピールすると同時に、産業の発展に貢献できると考えた。

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である1) 遺伝毒性試験 *in vivo* コメットアッセイ、2) 形質転換試験 Bhas 法、3) 皮膚感作性試験 h-CLAT および4) 眼刺激性試験 STE 法について、国際機関の協力を得て、TGを進めた。

結果として、本年、*in vivo* コメットアッセイをOECD TG489として承認させることができた。

F 参考文献

1) OECD, Guidance document on the validation and international acceptance of new or updated methods for hazard assessment, No.34 (2005) OECD Series on Testing and Assessment:

- Testing for Human Health.
- 2) 国際協調により公的な試験法を確立するための手順に関する研究(2011 年度報告書) Available at: <http://research-er.jp/projects/mhlw/view/201133004/>
 - 3) 平成 18 年度～平成 22 年度成果報告書 高機能簡易型有害性評価手法の開発 培養細胞を用いた有害性評価手法の開発 ハイスループット発がん性予測試験法の開発 (H18～H22) Available at: http://www.nedo.go.jp/library/seika/shosai_201107/20110000000806.html
 - 4) 動物実験代替法を用いた安全性評価体制の確立と国際協調に関する研究(2008 年度報告書) Available at: <http://research-er.jp/projects/mhlw/view/200838021/>
 - 5) 国際協調を重視した化粧品・医薬部外品における安全性試験法の再評価に関する研究 (2012 年度)
 - 6) OECD, No 195: Report of the JACVAM initiative international pre-validation studies of the *in vivo* rodent alkaline comet assay for the detection of genotoxic carcinogens
 - 7) OECD, No 196: Report of the JACVAM initiative international validation studies of the *in vivo* rodent alkaline comet assay for the detection of genotoxic carcinogens
 - 8) OECD ,No 197: Peer review report of the JACVAM initiative international validation studies of the *in vivo* rodent alkaline comet assay for the detection of genotoxic carcinogens
 - 9) OECD, Test No. 489: In Vivo Mammalian Alkaline Comet Assay, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals (2014)
 - 10) OECD, No 208: BHAS 42 cell transformation assay validation study report
 - 11) Report EUR 26374 EN, EURL ECVAM Recommendation on the Cell Transformation Assay based on the Bhas 42 cell line (2013)
 - 12) EURL ECVAM Recommendation concerning the Cell Transformation Assays (CTA), Available at: http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_labs/eurl-ecvam/eurl-ecvam-recommendations/cta-recommendation
 - 13) DIRECTIVE 2010/63/EU OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes, Available at: <http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2010:276:0033:0079:en:PDF>
 - 14) EC EURL ECVAM (2012). human Cell Line Activation Test (h-CLAT) Validation Study Report Accessible at: in publication
 - 15) EC EURL-ECVAM (2015). Recommendation on the human Cell Line Activation Test (h-CLAT) for skin sensitisation testing. Accessible at: (in preparation)
 - 16) Takahashi Y, Koike M, Honda H, Ito Y, Sakaguchi H, Suzuki H and Nishiyama N. (2008), Development of the short time exposure (STE) test: an *in vitro* eye irritation test using SIRC cells., *Toxicol. In Vitro* 22:760-770
 - 17) Sakaguchi H, Ota N, Omori T, Kuwahara H, Sozu T, Takagi Y, Takahashi Y, Tanigawa K, Nakanishi M, Nakamura T, Morimoto T, Wakuri S, Okamoto Y, Sakaguchi M, Hayashi T, Hanji T, and Watanabe S. (2011). Validation study of the Short Time Exposure (STE) test to assess the eye irritation potential of chemicals, *Toxicol. In Vitro*, 25, pp.796-809.
 - 18) 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.

- (2013). Second-phase Validation of Short Time Exposure Tests for Assessment of Eye Irritation Potency of Chemicals. *Toxicol. 24 In Vitro*, 27, pp.1855-1869.
- 19) ICCVAM (2013) Short Time Exposure (STE) Test Method Summary Review Document, NIH. Available at: http://ntp.niehs.nih.gov/iccvam/docs/ocutox_docs/STE-SRD-NICEATM-508.pdf
- G. 研究発表
1. 論文発表
- 1) 小島肇夫：技術移転で整備すべき文章・報告書類，実験者／試験検査員の誤ったデータの取扱い・試験誤操作防止策．技術情報協会，東京，pp.57-58(2014)
 - 2) 小島肇夫：動物実験代替法を取り入れた安全性保証の考え方，美肌化学の最前線，(株)シーエムシー出版，東京，pp.157-163(2014)
 - 3) 小島肇夫：代替法における工学的新技術の可能性，動物実験代替のためのバイオマテリアル・デバイス，(株)シーエムシー出版，東京，pp.1-5(2014)
 - 4) 小島肇夫：化粧品の安全性評価，エマルションの特性評価と新製品開発，品質管理への活用，(株)技術情報協会，東京，pp.326-331 (2014)
 - 5) 小島肇夫：化粧品・医薬部外品 安全性評価試験法，(株)じほう，東京，pp.1-138(2014)
 - 6) 小島肇夫：化粧品・医薬部外品の安全性評価のための動物実験代替法開発の現状と課題，フレグランスジャーナル，42(9)，pp.12-19 (2014)
 - 7) 小島肇夫，西川秋佳：日本動物実験代替法評価センター (JaCVAM) 平成 25 年度報告書．AATEX-JaCVAM, 3(2), pp.115-123(2014)
 - 8) 中澤憲一，篠田和俊，小島肇，吉村 功，西岡吾朗，石井 健: *in vitro* 発熱性物質試験の評価報告書，AATEX-JaCVAM, 3(2), 71-96 (2014)
 - 9) 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, *Toxicol In Vitro*. 28(4), 515-23 (2014)
 - 10) Kojima H, Katoh M, Shinoda S, Hagiwara S, Suzuki T, Izumi R, Yamaguchi Y, Nakamura M, Kasahawa T, Shibai A: A catch-up validation study of an in vitro skin irritation test method using reconstructed human epidermis LabCyte EPI-MODEL24, *J Appl Toxicol*, 34(7), 766-74 (2014)
 - 11) 小島肇夫：技術講座 安全性評価試験 (18) 遺伝毒性試験－組合せ、COSME TECH JAPAN, 3 (4) 74-77 (2013)
 - 12) 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)
 - 13) 小島肇夫：技術講座 安全性評価試験 (19) 遺伝毒性試験－エイムス試験、COSME TECH JAPAN, 3 (5) 82-85 (2013)
 - 14) 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)
 - 15) 小島肇夫：技術講座 安全性評価試験 (20) 遺伝毒性試験－哺乳類の培養細胞を用いる試験、COSME TECH JAPAN, 3 (6) 72-77 (2013)
 - 16) 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)
 - 17) 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)
- 18) 小島肇夫：技術講座 安全性評価試験 (21)
遺伝毒性試験—げっ歯類を用いる小核試験、
COSME TECH JAPAN, 3 (7) 116-120
(2013)
- 19) 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)
- 20) 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)
- 21) Yamaguchi H, Kojima H, Takezawa T :
Vitrigel-Eye Irritation Test Method using HCE-T
cells, *Toxicological Sciences*, 135(2), 347-55
(2013)
- 22) 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)
- 23) 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)
- 24) Kojima H, Katoh 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)
- 25) 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)
- 26) 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)
- 27) 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)
- 28) 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)
- 29) 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)
- 30) 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, Rippeke 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)
- 31) 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)
- 32) Kojima H:-Update from the Japanese Center for
the Validation of Alternative Methods
(JaCVAM)., *Alternatives to Laboratory Animals*,
41(6), 435-441(2013)
- 33) 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)
- 34) 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)
- 35) 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)
- 36) 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)
- 37) 小島肇夫：技術講座 安全性評価試験 (6) , COSME TECH JAPAN, 2(4) : 59-63 (2012)
- 38) 小島肇夫：技術講座 安全性評価試験 (7) , COSME TECH JAPAN, 2(5) : 51-54 (2012)
- 39) 小島肇夫：技術講座 安全性評価試験 (8) , COSME TECH JAPAN, 2(6) : 60-63 (2012)
- 40) 小島肇夫：技術講座 安全性評価試験 (9) , COSME TECH JAPAN, 2(7) : 55-58 (2012)
- 41) 小島肇夫：技術講座 安全性評価試験 (10) , COSME TECH JAPAN, 2(8) : 50-53 (2012)
- 42) 小島肇夫：技術講座 安全性評価試験 (11) , COSME TECH JAPAN, 2(9) : 43-48 (2012)
- 43) 小島肇夫：技術講座 安全性評価試験 (12) , COSME TECH JAPAN, 2(10) : 48-51 (2012)
- 44) 小島肇夫：技術講座 安全性評価試験 (13) , COSME TECH JAPAN, 2(11) : 44-48 (2012)
- 45) 小島肇夫：技術講座 安全性評価試験 (14) , COSME TECH JAPAN, 2(12) : 39-42 (2012)
- 46) 小島肇夫：技術講座 安全性評価試験 (15) , COSME TECH JAPAN, 3(1) : 68-72 (2013)
- 47) 小島肇夫：技術講座 安全性評価試験 (16) , COSME TECH JAPAN, 3(2) : 51-57(2013)
- 48) Kojima, H.: The Japanese Center for the Validation of Alternative Methods (JaCVAM): Recent ICATM Contributions and Future Plans, ALTEX Proceeding, 1/12, Proceedings of WC8 (2012)
- 49) Onoue S, Hosoi K, Wakuri S, Iwase Y, Yamamoto T, Matsuoka N, Nakamura K, Toda T, Takagi H, Osaki N, Matsumoto Y, Kawakami S, Seto Y, Kato M, Yamada S, Ohno Y, Kojima H.: Establishment and intra-/inter-laboratory validation of a standard protocol of reactive oxygen species assay for chemical photosafety evaluation., J Appl Toxicol. (2012)
- 50) Seto Y, Hosoi K, Takagi H, Nakamura K, Kojima H., Yamada S, Onoue S.: Exploratory and regulatory assessments on photosafety of new drug entities., Curr Drug Saf. 7(2):140-8 (2012)
- 51) Stokes W, McFarland R, Kulpa-Eddy J, Gatewood D, Levis R, Halder M, Pulle G, Kojima H., Casey W, Gaydamaka A, Miller T, Brown K, Lewis C, Chapsal JM, Bruckner L, Gairola S, Kamphuis E, Rupprecht CE, Wunderli P, McElhinney L, De Mattia F, Gamoh K, Hill R, Reed D, Doelling V, Johnson N, Allen D, Rinckel L, Jones B.:Report on the international workshop on alternative methods for human and veterinary rabies vaccine testing: state of the science and planning the way forward.Biologicals. 40(5):369-81(2012)
- 52) 小島肇、西川秋佳：日本動物実験代替法評価センター(JaCVAM)平成 23 年度報告書、AATEX-JaCVAM1(1), 88-103 (2012)
2. 口頭発表
- 1) 小島肇：シンポジウムⅡ「iPS 細胞技術の発展と創薬・治療への応用」動物実験代替法への iPS 細胞の応用，第 21 回 HAB 研究機構学術年会 (2014.5) (東京)
- 2) 小島肇：シンポジウムⅢ「化粧品および製薬開発における動物実験の世界的動向」EU における化粧品開発の現状と今後の動向，日本実験動物科学技術さっぽろ 2014(第 61 回日本実験動物学会総会，第 48 回日本実験動物技術者協会総会) (2014.5) (札幌)

- 3) 小島 肇: 海外レギュレーションの最近の動向, 平成 26 年度日本環境変異原学会公開シンポジウム「レギュラトリーサイエンス」(2014.5) (東京)
- 4) 小島 肇: シンポジウム 2 「創薬を支援する先端培養技術: PKPD 予測に有用なヒト細胞の培養モデル」新しい評価体系構築に関する欧州の動向と日本の寄与, 日本組織培養学会 第 87 回大会 (2014.5) (東京)
- 5) Kojima H, Kleinstreuer N, Lim C.H., Sozu T, Watanabe M, Niitsuma T, Yamashita K, Fukuda T, Yamaguchi N, Fujiwara S, Yamaguchi H, Takezawa T: Pre-validation study of Vitrigel-EIT (Eye Irritancy Test) method (Vitrigel-EIT: 眼刺激性試験) 法のプレバリデーション研究, 日本組織培養学会 第 87 回大会 (2014.5) (東京)
- 6) 内野 正, 竹澤俊明, 山下邦彦, 小島 肇, 押方 歩, 石田誠一, 清水 久美子, 秋山卓美, 五十嵐 良明: THP-1 細胞のビトリゲル薄膜への接着性について, 日本組織培養学会 第 87 回大会 (2014.5) (東京)
- 7) 小島 肇: Vitrigel-model を活用した ADME/Tox 試験法の実用化構想, NIAS シンポジウム「再生医療, 創薬および動物実験代替法の分野における実用化を指向したコーゲンビトリゲルビトリゲルの開発状況」(2014.5) (東京)
- 8) 小島 肇: OECD テストガイドラインナショナルコーディネーター会合報告, JEMS/MMS 研究会第 64 回定例会 (2014.6) (熱海, 静岡)
- 9) 小島 肇: シンポジウム“*in vitro* 毒性試験としての iPS 細胞利用の有用性と留意点”序論, 第 41 回日本毒性学会学術年会 (2014.7) (神戸)
- 10) 岩瀬裕美子, 細井一弘, 尾上誠良, 若栗 忍, 山本敏誠, 川上 哲, 松本康浩, 戸田嗣人, 大崎尚人, 高木広憲, 中村和市, 小島 肇: Reactive Oxygen Species (ROS) アッセイ他施設バリデーション: 総括と推奨プロトコール, 第 41 回日本毒性学会学術年会 (2014.7) (神戸)
- 11) 伊藤浩太, 榊原隆史, 六川潤美, 古川正敏, 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) による化粧品・医薬部外品の眼刺激性の検討, 第 41 回日本毒性学会学術年会 (2014.7) (神戸)
- 12) 山口宏之, 小島 肇, 竹澤俊明: Vitlige-EIT 法: 経上皮電気抵抗値を指標とした高感度な *in vitro* 眼刺激性試験法, 第 41 回日本毒性学会学術年会 (2014.7) (神戸)
- 13) 小島 肇: 動物実験代替法を用いた安全性評価とその問題点, 第 3 回加計学園コスメティックサイエンスシンポジウム (2014.7) (千葉)
- 14) 山口宏之, 小島 肇, 竹澤俊明: 新しい眼刺激性試験法: Vitrigel-Eye Irritancy Test (EIT) method, 日本動物実験代替法学会 ワークショップ「日本発の動物実験代替法の現状」(2014.8) (東京)
- 15) Kojima H: Activities of JSAAE, The 9th World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences, (2014.8) (Prague, Czech)
- 16) Kojima H, Nishikawa A: The Japanese Center for the Validation of Alternative Methods (JaCVAM): Update, The 9th World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences, (2014.8) (Prague, Czech)
- 17) Kojima H, Oshimura M, 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, The 9th World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences, (2014.8) (Prague, Czech)
- 18) Kojima H, Spielmann H, Onoue S: The ROS *in vitro* phototoxicity assay for ICH, The 9th World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences, (2014.8) (Prague, Czech)
- 19) Kojima H: Regulatory science panel discussion Human-on-a-chip - Advancing regulatory science through innovation and world wide networking for alternative testing, The 9th World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences, (2014.8) (Prague, Czech)
- 20) Maruya A, Aiba S, Kimura Y, Watanabe M, Suzuki N, Saito K, Nakajima Y, Ohmiya Y, Kojima H, Tanaka N: Comparison of 3 criteria incorporating variation of index for toxicity of the interleukin 8 luciferase Luc assay (IL-8 Luc assay) , The 9th World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences, (2014.8) (Prague, Czech)
- 21) Ikeda H, Katoh M, Omori T, Yamashita A, Endo M, Shinoda S, Hagiwara S, Kasahara T, Tahara H, Nakahara S, Akiyama S, Yoshitake Y, Kojima H: Additional joint research on eye irritation alternative method with human corneal model; LabCyte CORNEA-MODEL24, The 9th World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences, (2014.8) (Prague, Czech)
- 22) Yamaguchi H, Kojima H, Takezawa T: Advantage of “Vitrigel-EIT (eye irritancy test) method”: a brief eye irritation test utilizing changes of barrier function after exposing chemicals to a human corneal epithelium model as an indicator, The 9th World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences, (2014.8) (Prague, Czech)
- 23) Ono A, Takeyoshi M, Maeda Y, Suzuki N, Kojima N, Takeuchi S, Hong J.H, Lee H.S, Vinggaard A.M, Odum J, Laws S, Kojima H: An inter-laboratory validation study of an androgen receptor stably transfected transcriptional activation (AR STTA) assay for a new OECD test guideline, The 9th World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences, (2014.8) (Prague, Czech)
- 24) Kimura Y, Watanabe M, Suzuki N, Saito K, Nakajima Y, Ohmiya Y, Omori T, Kojima H, Tanaka N, Aiba S: An inter-laboratory validation study of IL-8 Luc assay using a stable THP-1-derived IL-8 reporter cell line, THP-G8, The 9th World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences, (2014.8) (Prague, Czech)
- 25) Narita K, Kojima H, Itagaki H: Investigation of the use of THP-1 cells and IL-8 release to assess water-insoluble chemicals with the short time exposure test method, The 9th World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences, (2014.8) (Prague, Czech)
- 26) Uchino T, Miyazaki H, Yamashita K, Kojima H, Oshikata-Miyazaki A, Takezawa T, Shimizu K, Akiyama T, Ikarashi Y: Development of skin sensitization test method using THP-1 cells cultured on a collagen vitrigel membrane chamber for oily materials, The 9th World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences, (2014.8) (Prague, Czech)
- 27) Watanabe M, Sozu T, Niitsma T, Yamashita K, Fukuda T, Yamaguchi N, Fujiwara S, Yamaguchi H, Takezawa T, Kojima H: Pre-validation study of Vitrigel-EIT (Eye Irritancy Test) method, The 9th World Congress

- on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences, (2014.8) (Prague, Czech)
- 28) 小島 肇: 実験動物代替法の現状と化学製品メーカーの取り組み, 新科学技術推進協会 ライフサイエンス技術部会 材料分科講演会 (2014.9) (東京)
- 29) 小島 肇: 動物実験代替法開発の国内外の動向と化粧品・医薬部外品への代替法活用の現状について, 皮膚基礎研究クラスターフォーラム (2014.9) (東京)
- 30) 小島 肇: 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”について, 化粧品原料協会 講演会 (2014.10) (東京)
- 31) 小島 肇: JaCVAM 資料編纂委員会からの提言, ROS アッセイ技術講習会 (2014.10) (東京)
- 32) Kojima H: The International collaboration on developing alternative to animal testing in Japan, 2014 International Symposium on Cosmetic regulations, (2014.10) (台北, 台湾)
- 33) 小島 肇: 「動物実験代替法に関する国内外の動向」～動物実験禁止の国際社会での広がりについて～, 新潟大学 慰霊祭特別講演 (2014.11) (新潟)
- 34) 小島 肇: Cases of OECD Guideline development by JaCVAM, 11th Annual meeting of KSAAE (2014.11) (清州, 韓国)
- 35) 小島 肇: Safety evaluation using alternative methods for quasai drug & cosmetic products in Japan, Progress on replacement of animals for cosmetic resting and other issues (2014.11) (ボルチモア, 米国)
- 36) 小島 肇: 三次元生体組織構築への期待と課題, 第三回三次元生体組織構築公開シンポジウム (2014.12) (大阪)
- 37) 小島 肇: シンポジウム 1 「医薬部外品申請において動物実験代替法を活用するため
- にーガイダンス検討会活動の紹介ー」ガイダンス検討会発足の趣旨, 日本動物実験代替法学会第 27 回大会 (2014.12) (横浜)
- 38) 山影康次, 鈴木紀之, 斎藤幸一, 渡部美香, 池田直弘, 柳 和則, 大森 崇, 小島 肇, 田中憲穂: シンポジウム 2 「化学物質の「安全の保証」に向けてー安心・安全に向けた化学業界の取り組みー」産業利用促進を目指した新規 *in vitro* 発生毒性試験の応用研究, 日本動物実験代替法学会第 27 回大会 (2014.12) (横浜)
- 39) 加藤義直, 山本直樹, 五十嵐敏夫, 佐藤 淳, 中田 悟, 小島 肇: 不死化ヒト角膜細胞株 (iHCE-NY) を用いた三次元角膜再構築モデルにおける眼刺激性評価方法の検討～画像解析による判定法の開発～, 日本動物実験代替法学会第 27 回大会 (2014.12) (横浜)
- 40) 山口宏之, 小島 肇, 竹澤俊明: Vitrigel-EIT 法 (経上皮電気抵抗値を指標とした高感度な *in vitro* 眼刺激性試験法) による予測性の特徴, 日本動物実験代替法学会第 27 回大会 (2014.12) (横浜)
- 41) 遠藤麻衣, 加藤雅一, 大森 崇, 山下愛未, 小島 肇, 笠原利彦, 田原春菜, 篠田伸介, 萩原沙織, 池田英史, 吉武裕一郎: LabCyte CORNEA-MODEL 眼刺激性試験法における生細胞率測定方法の比較, 日本動物実験代替法学会第 27 回大会 (2014.12) (横浜)
- 42) 渡辺美香, Kleinstreuer Nicole C., Schaeffer Michael, Kim Tae Sung, Chen Wannhsin, 寒水孝司, 新妻 健, 山下邦彦, 宮崎 洋, 福田隆之, 山口典子, 藤原 聖, 山口宏之, 竹澤俊明, 小島 肇: Vitrigel-EIT (Eye Irritancy Test) 法のバリデーション研究 (2), 日本動物実験代替法学会第 27 回大会 (2014.12) (横浜)
- 43) 丸谷あおい, 相場節也, 木村 裕, 渡辺美

- 香, 鈴木紀之, 山影康次, 斎藤幸一, 中島芳治, 近江谷克裕, 山崎晶次郎, 小島 肇, 田中憲穂, 坂口 斉, 板垣 宏, 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3つの判定基準の検討, 日本動物実験代替法学会第27回大会(2014.12)(横浜)
- 44) 木村 裕, 渡辺美香, 鈴木紀之, 岩城知子, 山影康次, 斎藤幸一, 中島芳浩, 藤村千鶴, 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27回大会(2014.12)(横浜)
- 45) 成田和人, 小島 肇, 板垣 宏: *in vitro* 皮膚感作性試験における難水溶性物質短時間暴露の検討, 日本動物実験代替法学会第27回大会(2014.12)(横浜)
- 46) 内野 正, 宮崎 洋, 山下邦彦, 小島 肇, 竹澤俊明, 山口典子, 中村 牧, 高石雅之, 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法(Vitirgel-SST 法)の改良, 日本動物実験代替法学会第27回大会(2014.12)(横浜)
- 47) 宮崎 洋, 山下邦彦, 内野 正, 小島 肇, 竹澤俊明: ビトリゲルチャンバーを用いた皮膚感作性試験代替法(Vitirgel-SST 法)による感作性物質の評価, 日本動物実験代替法学会第27回大会(2014.12)(横浜)
- 48) 小島 肇, 西川秋佳: JaCVAM の昨今活動とその将来, 日本動物実験代替法学会第27回大会(2014.12)(横浜)
- 49) 小島 肇: Human/Organs-On-A-Chip 研究開発への期待と懸念, シンポジウム: 細胞アッセイ技術の現状と将来(2015.1)(東京)
- 50) 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
- 51) 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回日本毒性学会 学術年会, 2013年6月17-19日, 幕張メッセ
- 52) 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, 中村和市, 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回日本毒性学会 学術年会, 2013年6月17-19日, 幕張メッセ
- 53) 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回日本毒性学会 学術年会, 2013年6月17-19日, 幕張メッセ
- 54) 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
- 55) 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
- 56) 7) 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
- 57) Kojima H: Our Practical Examples of International Validation Studies for Establishing

- OECD Test Guidelines , The International Symposium of the Center of Alternative Methods for Safety Evaluation of Cosmetics, July 2, 2013, COEX, Seoul, Korea
- 58) 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
- 59) 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
- 60) 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
- 61) 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)
- 62) 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)
- 63) 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
- 64) 小島 肇 : 三次元培養モデルの現状と可能性、株式会社ニコダームリサーチ 創立10周年記念特別講演会
- 65) 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
- 66) 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
- 67) 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
- 68) 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
- 69) 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
- 70) 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
- 71) 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
- 72) 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
- 73) 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、斎藤 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
- 74) 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
- 75) 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
- 76) 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
- 77) 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ン研究 (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
- 78) 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ン研究、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
- 79) 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
- 80) 31) 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)
- 81) 山本直樹、平野耕治、山下宏美、加藤義直、佐藤淳、水谷宏、中村政志、原和宏、宇佐美雅仁、谷川篤宏、堀口正之、谷口孝喜、小島 肇：不死化角膜上皮細胞 (iHCE-NY) を用いた眼刺激性試験代替法に関する研究日本組織培養学会 第85回大会、京都大学、京都 (2012.5)
- 82) 小島 肇：動物実験代替法の国際的理解、日本実験動物科学・技術 九州2012、別府国際コンベンションセンター、大分 (2012.5)
- 83) 小島 肇：欧米、日本における代替法の現状と化粧品の安全性評価における代替法、未来へのバイオ技術勉強会 月例会、(一財) バイオインダストリー協会、東京 (2012.5)
- 84) 尾上 誠良、細井 一弘、若栗 忍、岩瀬 裕美子、山本 敏誠、松岡 奈央子、中村 和希、戸田 嗣人、高木 広憲、大崎 尚人、松本 康浩、川上 哲、世戸 孝樹、加藤 尚視、山田 静雄、大野 泰雄、小島 肇：ROS アッセイ多施設バリデーション：物性からの光毒性リスク予測を目指して、日本薬剤学会第27年会、神戸国際会議場、兵庫 (2012.5)
- 85) Kojima, H. : Session: Regulatory Acceptance of Alternative Carcinogenicity tests (セッション：発癌性試験代替法の行政的な受入れ) OECD Activities on the Cell Transformation Assays,

- World Congress on in Vitro Biology, 2012, Bellevue, Washington, USA (2012.6)
- 86) Kojima, H., Tanaka, N., Oshimura, M., Saito, K., Saito, F. and Imatanaka, N. : New Research Projects in Japan for Alternative to Repeated Dose Oral Toxicity Studies, EUROTOX 2012, Stockholm, Sweden (2012.6)
- 87) 小島 肇 : シンポジウム : in vitro 毒性試験法の探索毒性試験への展開、in vitro 探索毒性試験の展望、第39回日本毒性学学術年会、仙台国際センター (2012.7)
- 88) 山口宏之、小島 肇、竹澤俊明 : コラーゲンビトリゲル膜チャンバー内に再構築したヒト角膜上皮組織シート : 化学物質の眼刺激性評価指標としての経皮電気抵抗値の重要性、第39回日本毒性学学術年会、仙台国際センター (2012.7)
- 89) 松本康浩、尾上誠良、細井一弘、若栗忍、岩瀬裕美子、山本敏誠、松岡奈央子、中村和希、戸田嗣人、高木広憲、大崎尚人、川上哲、世戸孝樹、加藤尚視、山田静雄、大野泰雄、小島肇 : 光安全性評価のための ROS アッセイ多施設バリデーション、第39回日本毒性学学術年会、仙台国際センター (2012.7)
- 90) 内野正、竹澤俊明、山下邦彦、小島肇、清水久美子、宮永裕子、五十嵐良明、西村哲司 : ビトリゲルチャンバーを培養担体とする皮膚感作性試験代替モデルを構成する細胞のサイトカイン産生能について、第39回日本毒性学学術年会、仙台国際センター (2012.7)
- 91) 六川潤美、榊原隆史、伊藤浩太、河村公太郎、古川正敏、藤平司朗、市戸等、並木正人、平賀武夫、小島肇、松浦正男:眼刺激性評価のための牛角膜を用いた混濁度および透過性試験法 (BCOP 法)、第39回日本毒性学学術年会、仙台国際センター (2012.7)
- 92) 小島 肇 : 皮膚刺激性評価法の最新動向、皮膚基礎研究クラスターフォーラム、タワーホール船堀、東京(2012.7)
- 93) 伊藤浩太、榊原隆史、六川潤美、平賀武夫、小島肇、松浦正男 : 牛摘出角膜を用いた眼刺激性試験代替法(BCOP法)、第 32 回比較眼科学会年次大会、名古屋国際会議場(2012.7)
- 94) 小島 肇 : 皮膚感作性試験代替法における最新動向、Workshop on the Adverse Outcome Pathways for skin sensitization assay,京都教育会館(2012.9)
- 95) Kojima, H., Tanaka, N., Oshimura, M., Saito, K., Saito, F. and Imatanaka, N. : Japanese New Project" ARCH-Tox" for the future Chemicals Management Policy: Research and Development of in vitro and in vivo Assay for Internationally Leading Hazard Assessment and Test Methods, 1st annual meeting of the American Society for Cellular and Computational Toxicology (ASCCT), ベセズタ、米国(2012.9)
- 96) Yoshifumi Uno for JaCVAM Comet Assay International Validation Project Team : Update of the Status of the JaCVAM Organized International *In Vivo* Comet Assay Validation Study 2012Genetic Toxicology Association (GTA) meeting, John M. Clayton Hall Conference Center, University of Delaware, Newark, DE (2012.10)
- 97) Kojima, H.: Historical background on the Japanese Validation Study, International Workshop on the HET-CAM Assay, ベルリン、ドイツ(2012.10)
- 98) 小島 肇 : テストガイドラインの現状、三次元生体組織構築公開シンポジウム、化学会館ホール、東京(2012.11)
- 99) 小島 肇 : 今後の化学物質等の安全性評価の方法はどうなるのか、第16回コロイド・界面技術者フォーラム、KKR江の島ニュー向洋、

- 神奈川(2012.11)
- 100) 濱田修一、高島理恵、嶋田圭祐、松本和美、川上哲、田中仁、松本浩孝、中井智博、今村匡志、松村奨士、真田尚和、井上健司、武藤重治、萩尾宗一郎、林亜耶、高柳智美、萩原庸介、前田晃央、成見香瑞範、寺島ゆかり、高沢博修、小川いづみ、大山ワカ子、涌生ゆみ、川迫一史、佐野正樹、大橋信之、森田健、小島肇、林真、本間正充：反復投与による肝臓小核試験法の有用性の検討：MMS共同研究の報告、日本環境変異原学会第41回大会、グランシップ 静岡(2012.11)
- 101) 大山ワカ子、成見香瑞範、岡田恵美子、藤石洋平、高柳智美、堀妃佐子、松村奨士、池田直弘、夏目匡克、田中仁、高島理恵、松本浩孝、須井哉、浅野哲秀、森田健、小島肇、本間正充、濱田修一、林真：反復投与による消化管小核試験法の有用性の検討：MMS共同研究の報告、日本環境変異原学会第41回大会、グランシップ 静岡(2012.11)
- 102) 小島肇：化粧品の安全性を考える、「化粧品学のスズメ」、東京農業大学世田谷キャンパス(2012.12)
- 103) 小島肇：25周年記念講演「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、慶応義塾大学芝共立キャンパス(2012.12)
- 104) 山口 宏之、小島肇、竹澤 俊明：シンポジウム：コラーゲンビトリゲル膜チャンバーを用いたAMET解析に有用な培養システム「コラーゲンビトリゲル膜チャンバーを利用した眼刺激性試験法の開発現状」、日本動物実験代替法学会 第25回大会、慶応義塾大学芝共立キャンパス(2012.12)
- 105) 内野 正、清水久美子、竹澤俊明、山下邦彦、小島肇、五十嵐良明、秋山卓美：シンポジウム：コラーゲンビトリゲル膜チャンバ
- ーを用いたAMET解析に有用な培養システム「コラーゲンビトリゲル膜チャンバーを利用した皮膚感作性試験法の開発現状」、日本動物実験代替法学会 第25回大会、慶応義塾大学芝共立キャンパス(2012.12)
- 106) 小島肇、安中 希、土屋成一朗、吉武裕一郎、許 睿、鈴木 克、嶋谷 亘、梶田明美、中村 牧、渡辺美香、中嶋圓、坂本興嗣、竹田竜嗣、久間將義、池田英史、稲垣愛美、棟近由記美、山本 裕、笠原利彦、福田隆之、仲原 聡、渡辺真一、倉田隼人、篠田伸介、加藤雅一：培養角膜モデルLabCyte CORNEA-MODEL24を用いた眼刺激性試験代替法共同研究、日本動物実験代替法学会 第25回大会、慶応義塾大学芝共立キャンパス(2012.12)
- 107) 木村 裕、渡辺 美香、斎藤 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、斎藤 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 II aの結果ならびに今後の展望-、日本動物実験代替法学会 第25回大会、慶応義塾大学芝共立キャンパス(2012.12)
- 108) 簾内 桃子、福田 隆之、池田 英史、鄭 美淑、大森 崇、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)、日本動物実験代替法学会 第25回大会、慶応義塾大学芝共立キャンパス(2012.12)
- 109) 岩瀬 裕美子、山本 敏誠、若栗 忍、尾上 誠良、世戸 孝樹、大崎 尚人、高木 広憲、戸田嗣人、中村 和希、松本 康浩、川上 哲、細井一弘、小島肇：医薬品の光安全性評価のためのReactive Oxygen Species (ROS)アッセイー JaCVAM多施設バリデーション研究一、日本動物実験代替法学会 第25回大会、慶応義塾

- 大学芝共立キャンパス(2012.12)
- 110) 榊原 隆史、六川 潤美、伊藤 浩太、河村 公太郎、古川 正敏、藤平司郎、市戸等、並木正人、平賀武夫、小島肇、松浦正男：眼刺激性評価のための牛角膜を用いた混濁度および透過性試験法 (BCOP法)、日本動物実験代替法学会 第25回大会、慶応義塾大学芝共立キャンパス(2012.12)
- 111) 小島 肇：iPS細胞を用いた安全性評価試験が行政的に受け入れられるために、日本学術会議薬学委員会シンポジウム 「iPS細胞研究の創薬への応用」、日本学術会議講堂、東京(2013.1)
- 112) 古川 正敏、六川 潤美、榊原 隆史、伊藤 浩太、藤平 司郎、平賀 武夫、小島 肇、松浦 正男：眼刺激性評価のための牛角膜を用いた混濁度および透過性試験法 (BCOP法) - 病理組織学的検査を中心に -、第29回日本毒性病理学会総会および学術集会、つくばフロンティアセンター(2013.1)
- 113) 小島 肇：最近の動物実験代替法の開発状況、革新的な医療機器の開発と動物実験代替法の最前線、富士ソフトアキバプラザ 5階富士ソフトアキバホール、東京(2013.2)
- 114) H Kojima, N Annaka, S Tsuchiya, Y Yoshitake, R Xu, M Suzuki, W Shimatani, A Kajita, M Nakamura, M Watanabe, M Nakajima, K Sakamoto, R Takeda, M Hisama, H Ikeda, M Inagaki, Y Munechika, Y Yamamoto, T Kasahara, T Fukuda, S Nakahara, S Watanabe, H Kurata, S Shinoda, M Katoh : Collaboration study on eye irritation alternative method with human corneal model; LabCyte CORNEA-MODEL24、52th Society Of Toxicology, San Antonio, Texas (2013.3)
- 115) W Casey, P Ceger, J Strickland, L Rinckel, E Grignard, Susanne Bremer, H Kojima, SY Han, W Stokes: Regulatory Acceptance of the BG1Luc Estrogen Receptor Transactivation Test Method, 52th Society Of Toxicology, San Antonio, Texas (2013.3)
- 116) J Kulpa-Eddy, R McFarland, G Srinivas, A Walker, M Halder, H Kojima, K Brown, H Draayer, R Sebring, V Doelling, B Jones, N Johnson, L Rinckel, W Casey, W Stokes: International Workshop on Alternative Methods for Veterinary *Leptospira* Vaccine Potency Testing, 52th Society Of Toxicology, San Antonio, Texas (2013.3)
- 117) T Toda, S Onoue, Y Seto, H Takagi, N Osaki, S Kawakami, Y Matsumoto, Y Iwase, T Yamamoto, S Wakuri, K Hosoi, K Nakamura, and H Kojima : Intra- and inter-laboratory validation study on reactive oxygen species (ROS) assay for photosafety evaluation of pharmaceuticals, 52th Society Of Toxicology, San Antonio, Texas (2013.3)
- 118) 小島 肇：動物モデルの必要性、日本薬学会第 133年会、横浜(2013.3)
- H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)
1. 特許取得
なし
 2. 実用新案登録
なし
 3. その他
なし
- I. 添付資料
添付資料1： OECD TG489 in vivo comet assay