

厚生労働行政推進調査事業費補助金（化学物質リスク研究事業）
AOPおよびIATAに立脚した国際的な安全性評価手法の確立
平成28年度総括研究報告書

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

研究要旨

本研究は、経済協力開発機構 (OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development) の進める安全性評価の国際的な潮流に乗り、日本が得意とする分野で主導的に AOP (Adverse Outcome Pathway) や IATA (Integrated Approaches to Testing and Assessment) を提案することを目的とする。並行して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試験法について、バリデーションおよび第三者評価を実施または支援することにより、OECD 試験法ガイドライン (TG: Test Guideline) を成立させることを目指す。

具体的には、免疫抑制、生殖発生毒性、発がん性および光安全性に関する日本発の AOP 案を作成し、また光安全性や免疫抑制について日本主導で IATA 案の作成を進める。一方、*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: human Cell Line Activation Test)、*in vitro* 発がん性スクリーニング Bhas 形質転換試験 (Bhas 法)、*in vitro* アンドロゲン受容体転写活性化法 (AR STTA: Androgen Receptor Mediated Stably Transfected Transcriptional Activation)、発生毒性試験スクリーニング Hand1-Luc EST (Embryonic Stem Cell Screening) および光安全性試験スクリーニング (ROS: Reactive Oxygen Species) アッセイ、遺伝毒性試験 チミジンキナーゼ遺伝子突然変異試験について、TG またはガイダンスを成立させることを目指している。

これまでの成果として、昨年度の形質転換試験 Bhas 法の OECD ガイダンス成立に引き続き、今年度の *in vitro* 皮膚感作性検出法 h-CLAT および *in vitro* 内分泌かく乱スクリーニング試験 AR STTA 法の OECD TG 成立に寄与した。また、眼刺激性試験代替法 Vitrigel-EIT および LabCyte Cornea-model EIT の TG 案を OECD に申請した。次年度は、*in vitro* 皮膚感作性試験 IL-8 Luc、発生毒性試験スクリーニング試験 Hand1-Luc EST および光安全性試験スクリーニング試験 ROS の OECD TG 化を継続して推進する。また、「免疫抑制」および「光安全性」に関する AOP を OECD に提出し、「細胞傷害による発がん」および「生殖発生毒性」の AOP 作成を継続する。OECD における「発がん性」、「皮膚感作性」および「眼刺激性」に関する IATA 作成にも関与し、「光安全性」および「免疫抑制」の IATA 作成についても引き続き検討する。

キーワード： OECD試験法ガイドライン、AOP、IATA、免疫抑制、生殖発生毒性、発がん性、光安全性、皮膚感作性、内分泌かく乱、遺伝毒性

研究分担者の氏名・所属機関名及び所属機関における職名

小島 肇 国立医薬品食品衛生研究所 安全性予測評価部室長
小川久美子 国立医薬品食品衛生研究所 病理部長

小野 敦 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 教授
尾上誠良 静岡県立大学薬学部 薬物動態学 教授
山田雅巳 国立医薬品食品衛生研究所 変異遺伝部室長

山影康次 一般財団法人 食品薬品安全センター-秦野研究所 研究開発部長
仲井俊司 一般社団法人 日本化学工業協会 化学品管理部長

A. 研究目的

昨今の動物実験の3Rsに対する国際的な訴求に加え、医薬品の安全性評価における実験動物とヒトとの種差、動物の週齢差による毒性発現の相違等が明らかになってきたことから、動物実験からヒト材料を用いた試験、あるいは毒性作用機構に基づく安全性評価手法の開発が進んでいる。経済協力開発機構 (OECD : Organisation for Economic Co-operation and Development)でも、毒性発現機構を明確にするためにAOP (Adverse Outcome Pathway)を作成し、それらの情報を網羅したIATA (Integrated Approaches to Testing and Assessment)により化学物質の行政的な安全性評価を推進する戦略を進めている。その理由の一つが動物実験代替法として開発された *in silico* や *in vitro* 試験のみでは局所毒性でさえも限られた有害性の同定にしか利用できず、リスク評価は困難であることが明確になってきたからである。ましてや、実験結果が複雑多岐にわたる反復投与毒性、生殖発生毒性、感作性、発がん性などの評価にはAOPに立脚した手法を開発し、曝露情報を考慮したIATAを用い、リスク評価を行っていく必要が生じている。

本研究は、このようなOECDの戦略の中で安全性評価の国際的な潮流に乗り、日本が得意とする分野で主導権を取ってAOPやIATAの作成を押し進める。一方で、それと並行して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試験法について、バリデーションおよび第三者評価を実施または支援し、OECD試験法ガイドライン (TG : Test Guideline)を成立させることを目指すものである。

B. 研究方法

B-1) AOP案の作成と提案

- (1) セミナーの開催 (小島):
OECD公認のAOPセミナーを開催した。
- (2) 免疫抑制 (小島):

日本免疫毒性学会の協力を得て、免疫抑制のAOP案(事例研究)を作成し、OECDに提案した。

(3) 発がん性 (小川、西川):

PubMedなどで文献調査を行い、実験動物に鼻腔発がんを誘発する化学物質をリストアップし、各々の物質について、遺伝毒性の評価状況、反復投与によって誘発される異形成、過形成、化生、炎症、萎縮などの初期の病理病変の種類、および誘発されるがんの組織型及び鼻腔内での部位等についてまとめ、データの関連性などについて考察した。

(4) 光安全性 (尾上、小島):

AOP案を作成し、OECDに提案した。

(5) 生殖発生毒性 (初期事象) (小島):

住友化学株式会社の協力を得て、関連学会の専門家とともにAOP案の作成を継続した。

B-2) IATA案の作成と提案

(1) 発がん性 (西川、小川):

英国主導で進められている非遺伝毒性発がん性に関するIATAの作成に協力した。

(2) 光安全性 (尾上):

IATA案を作成するとともに、ICH S10ガイドラインの適用拡大を指向し、多くの化合物に適用可能な毒性予測性や変動を網羅的に調査した。

(3) 免疫抑制 (小島):

OECDで進められている皮膚感作性に関するIATAの作成に協力した。

(4) 皮膚感作性 (小島):

OECDで進められている皮膚感作性のIATAの公定化に協力した。

(5) 眼刺激性 (小島):

OECDで進められている眼刺激性のIATAの公定化に協力した。

B-3) TGまたはガイダンス案の作成と提案

(1) *in vitro*皮膚感作性検出法 (小島):

ヒト樹状細胞株を用いた(h-CLAT: human Cell Line Activation Test)について、国内外の専門家とともに、TG成立を推進した。IL-8 Luc アッセイのTG案を作成した。

(2) *in vitro*発がん性スクリーニング (山影):

Bhas 42 CTA の培養開始 14 日目と培養終了 21 日目に WST-8 試薬により生細胞数(細胞活性)を測定し、その差を細胞増殖率とし、形質転換巢の形成された陽性ウェルと細胞増殖率のパターンをMB染色および陽性ウェルの出現パターンと比較した。

(3) *in vitro* 内分泌かく乱スクリーニング(小野): アンドロゲン受容体転写活性化試験(AR STTA)のTG成立を推進した。エストロゲン受容体転写活性化試験(ER STTA)関連として、JaCVAM 内分泌かく乱試験法資料編纂委員会で評価報告書を作成した。新規 *in chemico* 皮膚感作性試験(ADRA)の多施設検証研究を実施した。

(4) 発生毒性試験スクリーニング(小島): Hand1-Luc EST (Embryonic Stem cell Screening)のバリデーションおよび第三者評価結果をもとに、OECDのTG化を進めた。

(5) 光安全性試験スクリーニング(尾上): 光毒性反応機序の解明のために被験物質として benzophenone 誘導体(BZPs)6種を選択し、UVスペクトル解析、ROS assay、経皮的カセットドージング薬物動態試験、3T3 NRU PT および *in vivo* 光毒性試験を実施した。

(6) 遺伝毒性(山田): TG490に基づいて、共同研究用のプロトコールを作成し、実施機関に配布した。馬血清については、DONOR HORSE SERUMについてロット確認の後、同一ロットを実施機関に配布した。試験には、2つのカルチャーを並行して用い、被験物質として、代謝活性化系非存在下でメチルメタンスルホン酸(MMS)、代謝活性化系存在下で、無水シクロホスファミド(CP)を用いた。

(7) 眼刺激性試験代替法(小島): Vitrigel-EITおよびLabCyte Cornea-model EITのTG案をOECDに申請するため、SPSFを作成した。

B-4) 情報収集(仲井)

OECDの試験法(ヒト健康影響評価、環境影響評価)の最新状況について、OECDの化学品合同会合の第55回会合(2016年11月開催)の活動計画等に基づいて調査した。また、AOP、

IATA開発関連の海外主要機関の動向についても調査中である。

倫理面への配慮

本研究は動物実験の3Rsに配慮して試験法の開発を主とするものであり、動物実験は必要に応じて行う可能性はあるが、その際は動物使用数や動物に与える苦痛は最小限に留める。ボランティアおよびヒト組織は使用しない。これらのことから、倫理的問題は無いと考える。

C. 研究結果

C-1) AOP案の作成と提案

(1) セミナーの開催:

平成28年11月に一般の方を対象にOECD公認のAOPセミナーを唐津で開催し、国内外から約30名の参加者を集めた。

(2) 免疫抑制:

Binding of FK506-binding protein 12 (FKBP12) by calcineurin inhibitors leading to immunosuppressionに関するAOPを作成し、OECDで内部評価が実施された。

(3) 発がん性:

化学物質により誘発される鼻腔発がん過程の経路を腫瘍の組織型、動物種および投与経路別に文献情報を収集し、解析した。解析のために情報を収集した化学物質は、ラット41物質、マウス5物質、ハムスター8物質であった。鼻腔発がん過程の主要な経路について得られた結果を扁平上皮乳頭腫(ラット及びマウス) 扁平上皮がん(ラット) 腺腫(ラット、マウス及びハムスター) 腺がん(ラット) 腺扁平上皮がん(ラット) 神経上皮がん(ラット) 血管腫(マウス)および血管肉腫(マウス)について、吸入及び非吸入経路による曝露を考慮してまとめた。

(4) 光安全性:

ROS (Reactive Oxygen Species) induces phototoxic reactionsのAOPをOECDに提案し、OECDで了承された。

(5) 生殖発生毒性:

Hand1 gene dysregulation leading to embryotoxicityのAOPをOECDに提案し、了承された。

C-2) IATA 案の作成と提案

- (1) 発がん性：
非遺伝毒性発がん性 IATA の策定メンバーに西川および小川が参画することになり、2016年3月および2017年3月開催のOECD 専門家会議に出席した。
- (2) 光安全性：
IATA 案に資するため、AOP および TG 案の作成を継続した。
- (3) 免疫抑制：
OECD 事務局が進めている IATA ガイダンス および皮膚感作性ガイダンスの作成に引き続き協力した。
- (4) 皮膚感作性：
OECD 事務局が作成した皮膚感作性 IATA は平成 28 年 6 月の OECD Joint meeting での承認を経て、同年 11 月に HP で公開された。
- (5) 眼刺激性：
平成 28 年 11 月に OECD 本部(パリ)で開催された OECD 眼刺激性試験専門家委員会に参加し、IATA の内容を議論した。

C-3) TGまたはガイダンス案の作成と提案

- (1) *in vitro* 皮膚感作性検出法：
2016年9月に、ヒト樹状細胞株を用いた検出法 (h-CLAT : human Cell Line Activation Test) の TG 成立に寄与した。また、IL-8 Luc アッセイの TG 化を継続して推進した。
- (2) *in vitro* 発がん性スクリーニング：
同一プレートの細胞増殖率の結果と MB 染色の結果を比較したところ、ウェル側面に形質転換巣が形成されたウェルを陽性ウェルとすると、MB の吸光度が高いウェルはほぼ陽性ウェルとなり、これまでの結果と同様に MB の高い吸光度を示すウェルでは形質転換巣が形成されていることが確認された。また、WST-8 前処理することにより、形質転換率が低下する傾向が認められた。
- (3) *in vitro* 内分泌かく乱スクリーニング：
本研究班で提案してきた EcoScreen 細胞を用いた AR STTA 法は、2016年7月に OECD ガイドライン (TG458) として成立した。ADRA 法については、修正 SOP を用いてフェーズ 2 試験を実施中である。ER STTA 法に関する JaCVAM 内分泌かく乱スクリーニング資料編纂委員会において評価報告書が作成された。

(4) 発生毒性試験スクリーニング：

OECD に提出した Hand1-Luc EST の TG 案に対する専門家からのコメントが集約されるのを見守った。

(5) 光安全性試験スクリーニング：

全ての BZPs は UVA/B 領域において高い光吸収を示し、高い光励起性を有していた。6 種の BZPs のうち、4 種は高い光反応性を有し、2 種は光反応性が低かった。BZPs 経皮共投与後の薬物動態学的解析の結果、3 種は高い皮膚曝露リスクを示した。また、2 種は強い *in vitro* *in vivo* 光毒性を示した。ROS assay の OECD TG 案を OECD に提出した。

(6) 遺伝毒性：

チミジンキナーゼ (TK) 突然変異体頻度の平均は、代謝活性化系非存在下、溶媒対照で $8.2 (X10^{-6})$ 、陽性対照物質の MMS で $44.2 (X10^{-6})$ であった。代謝活性化系存在下では、溶媒対照で $6.3 (X10^{-6})$ 、陽性対照物質の CP で $32.6 (X10^{-6})$ であった。平均値としては、いずれも陽性対照物質が溶媒対照の約 5 倍の値を示し、十分な高頻度が得られていたが、ばらつきが大きい 2 機関と、誘発が不十分な他の機関とに二極化していた。

(7) 眼刺激性試験代替法：

Vitrigel-EIT および LabCyte Cornea-model EIT の TG 案に関する SPSF を OECD に提出した。

C-4) 情報収集

IATA 関連のガイダンス文書が多く作成されているが、AOP 関連の TG やガイダンスには顕著な動きはみられなかった。

D . 考察

これまでの特記すべき成果として、昨年度の形質転換試験 Bhas 法の OECD ガイダンス成立に引き続き、今年度の *in vitro* 皮膚感作性検出法 h-CLAT および *in vitro* 内分泌かく乱スクリーニング試験 AR STTA 法の OECD TG 成立に寄与した。いずれも我が国で開発された試験法である。今後、次年度にかけて、*in vitro* 皮膚感作性試験 IL-8 Luc、発生毒性試験スクリーニング試験 Hand1-Luc EST および光安全性試験スクリーニング試験 ROS の OECD TG 化を目指す。

AOP については、海外から専門家を招聘し、ト

レーニングセミナーを引き続き開催することにより、AOPの理解を研究班はもとより、班以外にも広げる。現在までに、「免疫抑制」および「光安全性」に関するAOPをOECDに提出し、「細胞傷害による発がん」および「生殖発生毒性」のAOP作成を継続している。OECDにおいて承認されたAOPはまだ6つと提案数のごく一部に過ぎないことから、承認までの道のりはそれほど平坦ではないと思われるが、本研究班の研究期間内に1つでも多くのAOP最終化を目指したい。

IATAについては、OECDで承認されているのが皮膚感作性に関するものだけであり、道はさらに険しいと言わざるを得ない。本研究班においても、OECDで検討されている「非遺伝毒性発がん性」に関するIATA作成作業に参画しているが、非遺伝毒性発がん性の定義や非遺伝毒性発がん性物質の閾値について十分なコンセンサスが得られているとは言えない。「光安全性」および「免疫抑制」のIATAについても引き続き検討していくが、IATAの作成過程そのものが試行錯誤の段階にあることから、難作業が予想される。本研究班としては、困難な作業を通じて、IATA作成の基礎を築いていくことが重要と考えている。

F . 研究発表

F- 1) 論文発表

- 1) Hibi D, Yokoo Y, Suzuki Y, Ishii Y, Jin M, Kijima A, Nohmi T, Nishikawa A, Umemura T. Lack of genotoxic mechanisms in early-stage furan-induced hepatocellular tumorigenesis in gpt delta rats. J Appl Toxicol. 2017 Feb;37(2):142-149.
- 2) Hirata T, Cho YM, Toyoda T, Akagi JI, Suzuki I, Nishikawa A, Ogawa K. Lack of in vivo mutagenicity of 1,2-dichloropropane and dichloromethane in the livers of gpt delta rats administered singly or in combination. J Appl Toxicol. 2016
- 3) Suzuki, I., Cho, Y-M., Hirata, T., Toyoda, T., Akagi, J., Nakamura, Y., Park, E-Y., Sasaki, A., Nakamura, T., Okamoto, S., Shiota, K., Suetome, N., Nishikawa, A. and Ogawa, K.: 4-Methylthio-3-butenyl isothiocyanate (*Raphasatin*) exerts chemopreventive effects against esophageal carcinogenesis in rats, Journal of Toxicologic Pathology, 2016, 29: 237-246.
- 4) Suzuki, I., Cho, Y-M., Hirata, T., Toyoda, T., Akagi, J., Nakamura, Y., Sasaki, A., Nakamura, T., Okamoto, S., Shiota, K., Suetome, N., Nishikawa, A. and Ogawa, K.: Toxic effects of 4-methylthio-3-butenyl isothiocyanate (*Raphasatin*) in the rat urinary bladder without genotoxicity, Journal of Applied Toxicology, 2017, 37: 485-494.
- 5) Matsushita, K., Toyoda, T., Inoue, K., Morikawa, T., Sone, M. and Ogawa, K.: Spontaneous infarcted adenoma of the mammary gland in a Wistar Hannover GALAS rat, Journal of Toxicologic Pathology, 2017, 30: 57-62.
- 6) Toyoda, T., Cho, Y-M., Akagi, J., Mizuta, Y., Matsushita, K., Nishikawa, A., Imaida, K. and Ogawa, K. Altered susceptibility of an obese rat model to 13-week subchronic toxicity induced by 3-monochloropropane-1,2-diol. Journal of Toxicologic Sciences, 2017, 42: 1-11.
- 7) Nonaka, M., Amakasu, K., Saegusa, Y., Naota, M., Nishimura, T., Ogawa, K. and Nishikawa, A. Non-neoplastic lesions found only in the two-year bioassays but not in shorter toxicity studies of rats. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 2017, 86 : 199– 204.
- 8) Cho, Y-M., Hasumura, M., Imai, T., Takami S., Nishikawa A. and Ogawa, K. Horseradish extract promotes urinary bladder carcinogenesis when administered to F344 rats in drinking water. Journal of Applied Toxicology, (in press)
- 9) 小島 肇: 日本で開発または評価された OECD テストガイドライン, 生物化学的測定研究会年報, 20 (2016)
- 10) 小島 肇: 皮膚毒性評価に関する最近の話題, 評価方法, 第 17 回日本毒性学会生涯教育講習会テキスト, 89-108 (2016)
- 11) Barroso J, Ahn IY, Caldeira C, Carmichael PL, Casey W, Coecke S, Curren R, Desprez B, Eskes C, Griesinger C, Guo J, Hill E, Roi AJ, Kojima H, Li J, Lim CH, Moura W, Nishikawa A, Park H, Peng S, Presgrave O, Singer T, Sohn SJ, Westmoreland C, Whelan M, Yang X, Yang Y, Zuang V.: International Harmonization and

- Cooperation in the Validation of Alternative Methods, *Advance in Experimental Medicine and Biology*. 2016; 856: 343-386
- 12) 小島 肇 : 皮膚細胞を用いた最新の in vitro 皮膚安全性評価研究, 月刊コスメティックステージ, 12, 1-4 (2016)
- 13) 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 27 年度報告書. AATEX-JaCVAM, 5(1), 45-56 (2016)
- 14) Yamamoto N, Kato Y, Sato A, Hiramatsu N, Yamashita H, Ohkuma M, Miyachi E, Horiguchi M, Hirano K, Kojima H: Establishment of a new immortalized human corneal epithelial cell line (iHCE-NY1) for use in evaluating eye irritancy by in vitro test methods, *In Vitro Cell. Dev. Biol.-Animal*. 52(7), 742-748 (2016)
- 15) Yamaguchi H, Kojima H, Takezawa T: Predictive performance of the Vitrigel-eye irritancy test method using 118 chemicals, *J Appl Toxicol*. 36(8): 1025-1037 (2016).
- 16) 小島 肇: 皮膚毒性評価に関する最近の話題, 評価方法, 第 17 回日本毒性学会生涯教育講習会テキスト, 89-108 (2016)
- 17) Uchino T, Kuroda Y, Ishida S, Yamashita K, Miyazaki H, Oshikata A, Shimizu K, Kojima H, Takezawa T, Akiyama T, Ikarashi Y: Increase of 2-integrin on adhesion of THP-1 cells to collagen vitrigel membrane, *Biosci Biotechnol Biochem*. 4: 1-6 (2016)
- 18) Marx U, Andersson TB, Bahinski A, Beilmann M, Beken S, Cassee FR, Cirit M, Daneshian, Fitzpatrick S, Frey O, Gaertner C, Giese C, Griffith L, Hartung T, Heringa MB, Hoeng J, Jong WH, Kojima H, Kuehl J, Leist M, Luch A, Maschmeyer I, Sakharov D, Sips AJAM, Steger-Hartmann T, Tagle DA, Tonevitsky A, Tralau T, Tsyb S, Stolpe A, Vandebriel R, Vulto P, Wang J, Wiest J, Rodenburg M, Roth A: Biology-inspired microphysiological system approaches to solve the prediction dilemma of substance testing. *ALTEX*. 33(3): 272-321 (2016)
- 19) Barroso J, Ahn IY, Caldeira C, Carmichael PL, Casey W, Coecke S, Curren R, Desprez B, Eskes C, Griesinger C, Guo J, Hill E, Roi AJ, Kojima H, Li J, Lim CH, Moura W, Nishikawa A, Park H, Peng S, Presgrave O, Singer T, Sohn SJ, Westmoreland C, Whelan M, Yang X, Yang Y, Zuang V.: International Harmonization and Cooperation in the Validation of Alternative Methods, *Advance in Experimental Medicine and Biology*. Validation of Alternative Methods for Toxicity Testing, Springer, 2016, pp.343-386
- 20) Kojima H., Safety Assessment of Cosmetic Ingredients, *COSMETIC SCIENCE AND TECHNOLOGY: THEORETICAL PRINCIPLES AND APPLICATIONS*, Elsevier 2017; 793-803
- 21) M. Matsumoto, H. Todo, T. Akiyama, M. Hirata-Koizumi, K. Sugibayashi, Y. Ikarashi, A. Ono, A. Hirose and K. Yokoyama ; Risk assessment of skin lightening cosmetics containing hydroquinone.; *Regul Toxicol Pharmacol*, 81,128- 135 (2016)
- 22) M. Hirata-Koizumi, R. Ise, H. Kato, T. Matsuyama, T. Nishimaki-Mogami, M. Takahashi, A. Ono, M. Ema and A. Hirose ; Transcriptome analyses demonstrate that Peroxisome Proliferator-Activated Receptor (PPAR) activity of an ultraviolet absorber, 2-(2'-hydroxy-3',5'-di-tert-butylphenyl)benzotriazole, as possible mechanism of their toxicity and the gender differences.; *J Toxicol Sci*, 41,(5) 693- 700 (2016)
- 23) Satomi Onoue, Yoshiki Seto, Hideyuki Sato, Hayato Nishida, Morihiko Hirota, Takao Ashikaga, Anne Marie Api, David Basketter, Yoshiki Tokura: Chemical photoallergy: photobiochemical mechanisms, classification, and risk assessments.; *Journal of Dermatological Sciences*, 85(1): 4- 11 (2017)
- 24) Hiroto Ohtake, Yukiko Suzuki, Masashi Kato, Yoshiki Seto, Satomi Onoue [Photosafety testing of dermally-applied chemicals based on photochemical and cassette-dosing pharmacokinetic data] *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 11(1): 237- 8 (2016)
- 25) Yoshiki Seto, Hiroto Ohtake, Satomi Onoue: Development of fluorometric reactive oxygen species assay for photosafety evaluation; *Toxicology in Vitro*, 34: 113- 9 (2016)
- 26) Yoshiki Seto, Gen Suzuki, Sharon Shui Yee Leung, Hak-Kim Chan, Satomi Onoue [Development

- of an Improved Inhalable Powder Formulation of Pirfenidone by Spray-Drying: In Vitro Characterization and Pharmacokinetic Profiling] *Pharmaceutical Research*, 33(6): 1447- 55 (2016)
- 27) Satomi Onoue, Hiroto Ohtake, Gen Suzuki, Yoshiki Seto, Hayato Nishida, Morihiko Hirota, Takao Ashikaga, Hirokazu Kouzuki: Comparative study on prediction performance of photosafety testing tools on photoallergens.; *Toxicology in Vitro*, 33: 147- 52 (2016)
- 28) Sugiyama K, Yamada M, Awogi T, Hakura A, The strains recommended for use in the bacterial reverse mutation test (OECD guideline 471) can be certified as non-genetically modified organisms. *Genes and Environ.*, 2016, 38, 2.
- 29) Wada, K., Kato, Y., Ohnuma-Koyama, A., Takahashi, N., Yamada, M., Matsumoto, K.: 2-Nitroanisole-induced oxidative DNA damage in *Salmonella typhimurium* and in rat urinary bladder cells, *Mutation Research*, 816, 18-23, 2017.
- 30) Kimoto, T., Horibata, K., (省略30名), Yamada, M., and Honma, M.: The PIGRET assay, a method for measuring Pig-a gene mutation in reticulocytes, is reliable as a short-term in vivo genotoxicity test: Summary of the MMS/JEMS-collaborative study across 16 laboratories using 24 chemicals, *Mutation Research*, 811: 3-15, 2016.
- 31) Tsuji S., Ohbayashi T, Yamakage K., Oshimura M., Tada M.: A Cytoplasmic form of *Gaussia luciferase* provides a highly sensitive test for cytotoxicity, *PLoS One*. 2016 May 26;11(5):e0156202.
- F-2) 学会発表
- 1) 小川久美子: 前向き評価におけるがん原性評価文書(CAD)に対する中間報告. 第43回日本毒性学会学術年会、名古屋、2016年6月.
- 2) 小川久美子、高須伸二: 新規臭素系難燃剤の毒性影響について. 環境科学会 2016 年会、横浜、2016 年 9 月. Kojima H: View and suggestion about how to promote progress and cooperation in Asia, 2016 上海化粧品科学フォーラム (2016.4) (Shanghai, China)
- 3) 小島 肇: 国際機関で承認されている in vitro 試験法, 日本組織培養学会 第 89 回大会 (2016.5)(大阪)
- 4) 山本直樹, 平松範子, 加藤義直, 佐藤 淳, 中田 悟, 松井優子, 真野陽介, 原 和宏, 増蘭夕紀子, 中村政志, 小島 肇: ヒト不死化角膜上皮細胞を用いた三次元角膜モデルの有用性, 日本組織培養学会 第 89 回大会 (2016.5)(大阪)
- 5) 小島 肇: 医薬品に係わる新添加剤の安全性評価における諸課題, 第 43 回日本毒性学会学術年会 (2016.6)(名古屋)
- 6) 小島 肇: 経済産業省プロジェクト「石油精製物質等の新たな化学物質規制に必要な国際先導的有害性試験法の開発: Arch-Tox」の計画概要, 第 43 回日本毒性学会学術年会 (2016.6)(名古屋)
- 7) 伊藤浩太, 榊原隆史, 古川正敏, 奥村宗平, 越田 美, 川村公太郎, 松浦正男, 小島 肇: 牛摘出角膜を用いた混濁度及び透過性試験 (BCOP 法: 眼刺激性代替法試験) における角膜病理学的検査により弱刺激性物質の評価, 第 43 回日本毒性学会学術年会 (2016.6)(名古屋)
- 8) Kojima H: Japanese activities for alternative to animal testing around the world, 6th Workshop & Training of Alternative Methods (2016.6) (Guangzhou, China)
- 9) 小島 肇: 皮膚毒性評価に関する最近の話題, 評価方法, 第 17 回日本毒性学会生涯教育講習会テキスト (2016.7)(名古屋)
- 10) 小島 肇: 代替法試験の基礎から最新知見まで, マツモト交商 安全性試験セミナー (2016.7) (東京)
- 11) 小島 肇: 動物実験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第 11 回教育セミナー (2016.7)(東京)
- 12) Kojima H: Strategy on the OECD TG in Japan, 13th Annual meeting of Korean Society for Alternatives to Animal Experiments (2016.8) (Seoul, Korea)
- 13) Kojima H: The current status of non-animal test methods and prospects for Asian cooperation, 17th Annual Congress of European Society for Alternative to Animal Testing (2016.8) (Linz, Austria)

- 14) 小島 肇: AOP の考え方, OECD による AOP プロジェクトの目的, 経緯と最終的なゴール, 第 23 回日本免疫毒性学会学術年会(2016.9)(北九州, 福岡)
- 15) Kojima H: International validation study on Hand1-Luc Embryonic stem cell test (Hand1-Luc EST): A reporter gene assay using engineered mouse ES cells evaluate embryotoxicity in vitro, 5th Annual meeting of American Society for Cellular and Computational Toxicology (2016.9) (North Carolina, USA)
- 16) 小島 肇: JaCVAM における 3Rs 原則と動物実験代替法, 日本動物実験代替法学会第 29 回大会 (2016.11)(福岡)
- 17) 藤田正晴, 笠原利彦, 山本裕介, 渡辺真一, 菅原経継, 若林晃次, 田原 宥, 堀江宣行, 藤本恵一, 高橋寛明, 黒川嘉彦, 小野 敦, 小島 肇: Cys および Lys 誘導体を用いた皮膚感作性試験代替法 (ADRA 法) のバリデーション研究のための技術移転結果報告, 日本動物実験代替法学会第 29 回大会 (2016.11)(福岡)
- 18) 松成夏美, 九十九英恵, 謝 丹, 岡 朱音, 小島 肇, 板垣 宏: タンパク質のアレルギー性を評価する in vitro 試験法の開発, 日本動物実験代替法学会第 29 回大会 (2016.11)(福岡)
- 19) 内野 正, 宮崎 洋, 山 邦彦, 竹澤俊明, 小島 肇, 秋山卓美, 五十嵐良明: 改良型コラーゲンビトリゲル膜チャンバーでの THP-1 細胞の細胞接着性及びサイトカイン産生量, 日本動物実験代替法学会第 29 回大会 (2016.11)(福岡)
- 20) VO P.T.H, Narita K, Nakagawa F, Kojima H, Itagaki H: Reducing false negative results in an in vitro skin sensitization test: The human cell line activation test, 日本動物実験代替法学会第 29 回大会 (2016.11)(福岡)
- 21) 小島 肇: 医薬品食品領域での動物愛護管理法の現在と未来, NPO 法人動物実験関係者連絡協議会 第 5 回シンポジウム 「動物愛護管理法」の過去・現在・未来 (2016.12)(東京)
- 22) A. Ono, J. Ciloy, M. Matsumoto, M. Takahashi, T. Kawamura and A. Hirose: Development and validation of a QSAR model to classify chemicals for toxic potency of sub-acute repeated dose toxicity. *17th International Conference on QSAR in environmental and health sciences* (2016.6, Miami Beach, Florida, USA)
- 23) A. Ono, H. Jinno and A. Hirose: Comparative analysis of respiratory and skin sensitization potential of chemicals using Japanese GHS classification.. *The 52nd Eurotox2016* (2016.9, Sevilla, Spain)
- 24) A. Ono, H. Jinno and A. Hirose: Evaluation of the OECD QSAR Toolbox in the screening of chemical sensitizer.. *The 14th International Congress of Toxicology* (2016.10, Merida, Mexico)
- 25) 世戸孝樹, Hak-Kim Chan, 尾上誠良: 体内動態制御により患者の QOL 改善に寄与する新規 pirfenidone 粉末吸入製剤の開発. 2016 年, 第 32 回 日本 DDS 学会学術集会
- 26) 世戸孝樹, 佐藤秀行, 尾上誠良: 安全性向上を指向した pirfenidone の DDS 研究. 2016 年, 第 2 回日本医薬品安全性学会学術大会
- 27) Yoshiki Seto, Satomi Onoue: An improved reactive oxygen species assay for photosafety assessment of chemicals with limited aqueous solubility. 2016, EUSAAT 2016, 17th Annual Congress of EUSAAT
- 28) Yosuke Iyama, Hiroto Ohtake, Hideyuki Sato, Yoshiki Seto, Satomi Onoue: Verification study on applicable domain of photosafety assessment by combined use of photochemical and pharmacokinetic data. 2016, 31st JSSX Annual Meeting
- 29) 尾上誠良: 光毒性リスク評価の開発と課題, 2016 年, 日本動物実験代替法学会第 29 回大会
- 30) 山田雅巳, 森田健: 遺伝毒性評価における染色体異常試験の要否を問う, 日本環境変異原学会第 45 回大会 シンポジウム, 2016 年
- 31) Yamada, M., Matsuda, S., Matsuda, T.: Application of single-molecule real-time (SMRT™) sequencing technology to mutation assay, 45th European Environmental Mutagenesis & Genomics Society, 2016
- 32) 須藤鎮世, 工藤季之, 白菊敏之, 小枝暁子, 小松佳奈, 関博, 山影康次, 山本美佳, 若田明裕, 松元郷六, 森田健: 変異原の閾値に関する共同研究: 提案と予備試験結果, 2016 年, 第 45 回 日本環境変異原学会

G . 知的所有権の取得状況

G-1) 特許取得

特になし

G-2) 実用新案登録

特になし

G-3) その他

以下の日本発のTG成立に寄与した .

- 1) OECD Test No. 442E: In Vitro Skin Sensitisation, Human Cell Line Activation Test (h-CLAT)
- 2) OECD Test No. 458: Stably Transfected Human Androgen Receptor Transcriptional Activation Assay for Detection of Androgenic Agonist and Antagonist Activity of Chemicals (AR STTA)