

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年度分担研究報告書

免疫抑制、光毒性および生殖毒性に関する試験法ガイドラインおよびAOPの開発

研究分担者 小島 肇
国立医薬品食品衛生研究所 安全性予測評価部

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）の作成を進める一方で、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日本発の試験法について、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ものである。

当該年度は日本免疫毒性学会の有志とBinding of FK506-binding protein 12 (FKBP12) by calcineurin inhibitors leading to immunosuppressionに関するAOPを作成し、OECDの専門家グループに内部評価を依頼した。ROS (Reactive Oxygen Species) induces phototoxic reactions およびHans1 gene dysregulation leading to embryotoxicityのAOP作成提案をOECDに行い、了承された。また、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。

一方、平成28年9月に*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）のTGを成立させることができた。皮膚感作性試験 IL-8 Luc アッセイおよび光安全性試験スクリーニング ROS アッセイのTG案をOECDに提出し、IL-8 Luc アッセイの成立に努めた。一方、生殖発生毒性試験代替法 Hand1 Luc EST、眼刺激性試験代替法 Vitrigel-EIT および LabCyte Cornea-model EIT のTG申請書をOECDに提出した。

キーワード：AOP、IATA、TG、OECD

久田 茂 日本免疫毒性学会試験法委員会
（あすか製薬株式会社）

研究分担者氏名・所属機関名及び所属機関における
職名

串間清司 日本免疫毒性学会試験法委員会
AOP検討小委員会

小川久美子 国立医薬品食品衛生研究所 病理部
部長

（アステラス製薬株式会社）
斉藤幸一 住友化学株式会社 生物環境科学研究
所

相場節也 東北大学医学系研究科・医学部・皮
膚科学分野教授

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

尾上誠良 静岡県立大学 薬学部 薬物動態学分
野 教授

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の手法開発が進んでいる。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日本発の試験法について、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。本研究では、免疫抑制、生殖発生毒性、眼刺激性および光安全性の部分を担当して活動した。

B. 研究方法

B-1. AOPの作成と提案

B-1-1. 情報収集

AOPを統括するOECD EAGMST（Extended Advisory Group on Molecular Screening and Toxicogenomics）に参加して、情報を収集した。

B-1-2. AOP勉強会

EAGMSTにて得られた情報を一般の方を対象に普及するため、OECD公認のAOPセミナーを唐津で開催した。

B-1-3. 免疫抑制のAOP

日本免疫毒性学会の協力を得て、免疫抑制のAOP作成（事例研究）を進めた。

B-1-4. 生殖毒性のAOP

住友化学株式会社の協力を得て、生殖毒性のAOPを作成した。

B-1-5. 光安全性のAOP

尾上分担研究所の協力を得て、光安全性のAOP作成をした。

B-2. IATAの作成と提案

B-2-1. 皮膚感作性

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。

B-2-2)眼刺激性

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の作成と提案

B-3-1. ヒト樹状細胞株を用いた*in vitro*皮膚感作性検出法(h-CLAT: human Cell Line Activation Test)

国内外の専門家とともに、h-CLATのTG成立を目指した。

B-3-2. *in vitro*皮膚感作性検出法 IL-8 Luc アッセイ

国内外の専門家とともに、IL-8 Luc アッセイのTG案を作成し、その成立に努めた。

B-3-3. 光安全性試験スクリーニング ROS（Reactive Oxygen Species）アッセイ

尾上分担研究所の協力を得て、ROSアッセイのTG案を作成した。

B-3-4. *in vitro*発がん性スクリーニング Bhas形質転換試験（Bhas法）

ガイダンスで生じた細胞のクロスコンタミ問題に対処し、GDの改訂に向け尽力した。

B-3-5. 生殖発生毒性試験Hand1 Luc EST

OECDに申請するHand1 Luc ESTのSPSF（Standard Project Submission Form）を作成した。

B-3-6. 眼刺激性試験代替法Vitrigel-EIT

OECDに申請するVitrigel-EITのSPSFを作成した。

B-3-7. 眼刺激性試験代替法LabCyte Cornea-model EIT

OECDに申請するLabCyte Cornea-model EITのSPSFを作成した。

B-3-8. アンドロジェンスクリーニングStably Transfected Transactivation to detect Androgen Receptor Agonists and Antagonists (AR STTA assays) : TG458

TG458に掲載されているChinese hamster ovary cell line (CHO-K1)細胞分与で生じた問題に対処するため、TGの改訂に向け尽力した。

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、動物実験は実施しない。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の作成と提案

C-1-1. 情報収集

平成28年6月にOECD本部(パリ)で開催されたOECD EAGMSTに電話会議で参加し、日本からの新規申請内容を伝えた(以下、(4)および(5)参照)。また、12月に開催された電話会議にて、日本発の免疫抑制に関するAOPをEAGMSTのメンバーにて内部評価するように依頼した。

なお、本年度、5つのAOPがOECDで正式に承認され、すでに承認されている皮膚感作性のAOPと合わせ、6つのAOPが承認されている。

1. Adverse Outcome Pathway on Protein Alkylation Leading to Liver Fibrosis
2. Adverse Outcome Pathway on Alkylation of DNA in Male Pre-Meiotic Germ Cells Leading to Heritable Mutations
3. Adverse Outcome Pathway on Aromatase Inhibition Leading to Reproductive Dysfunction (in Fish)
4. Adverse Outcome Pathway on chronic binding of antagonist to N-methyl-D-aspartate receptors (NMDARs) during brain development

induces impairment of learning and memory abilities

5. Adverse Outcome Pathway on binding of agonists to ionotropic glutamate receptors in adult brain leading to excitotoxicity that mediates neuronal cell death, contributing to learning and memory impairment

C-1-2. AOP勉強会

平成28年11月14日に一般の方を対象にOECD公認のAOPセミナーを唐津市民開会で開催した。海外から2名の講師(Dr. Catherine WILLETT Humane Society of the United States / Humane Society International, USA および Dr. Kellie FAY US Environmental Protection Agency, USA)を招聘し、国内外から約30名の参加者を集めた。AOPの原案を作成した米国からの講師の説明は、参加者に好評であった。Dr. FAYの発表資料を添付資料1に示す。

C-1-3. 免疫抑制のAOP

日本免疫毒性学会 試験法評価委員会の協力を得て、“Binding of FK506-binding protein 12 (FKBP12) by calcineurin inhibitors leading to immunosuppression”に関するAOP案を作成し、AOP wikiに入力した。この案を添付資料2として示す。

日本免疫毒性学会 試験法委員会 AOP検討小委員会のAOP作成者は以下のメンバーである。串間 清司, 小松 弘幸, 大石 巧, 後藤 玄, 杉本 潤一郎, 伊藤 志保, 高橋 義博, 大坪 靖治

免疫抑制に関するAOP研究の事例研究として、免疫抑制剤FK506のFKBP12との複合体形成を起点として生じる免疫抑制のAOPであることが本提案の概要である。FK506による免疫抑制作用はadverse Outcome (AO) effectではなくpharmacological effectであるが、免疫抑制剤の免疫抑制作用機序を理解することで、免疫抑制と関連が大きいKE(Key Event)やTGにつながる試験法の抽出ができると考えた。

現在、EAGMSTのメンバーにて内部評価が実施さ

れ、以下の指摘があった。

1. MIE (Molecular Initiation Event) を 1 化学物質に關与する事象ではなく、もっと一般的なものにすべきである。
2. A0 は一つにすべき、さらに、途中の KE もサイトカイン産生の抑制、と言うアバウトなものではなく、測定可能な具体的な事象にすべき (IL2 産生抑制とか) である。
3. KER (Key Event Relationship) に關する記載をペンディングにしていたので、これらについて追記する。
4. AOP を結合する、という目的を考慮して、KE の記載はより一般的なものとし、その A0 に特異的な現象等については、KER の方で記載すべきである。
5. カルシニューリン阻害を MIE にしてはどうかと提案しています。
6. MIE に影響を与える因子を、Chemical stressor として列挙する。
7. FK506 以外に、少なくともシクロスポリン A に關する情報も調べて追記する。
8. A0 発現に至る最終段階の記載がアバウトすぎる (KE との關連の記載が不十分)。

これらの指摘を受け、改定について作成グループで検討中である。

C-1-4. 生殖毒性の AOP

生殖毒性のマーカーとして住友化学株式会社が着目している Hand 1 遺伝子を MIE とした AOP の作成を OECD に提案し、EAGMST に認められた。来年度、AOP 案の作成に入る予定である。

C-1-5. 光安全性の AOP

光毒性のマーカーとして ROS を MIE とした AOP の作成を OECD に提案し、EAGMST に認められた。来年度、AOP 案の作成に入る予定である。

C-2. IATA の作成と提案

C-2-1. 皮膚感作性

OECD 事務局が作成している皮膚感作性の 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。

C-2-2. 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。平成 29 年 4 月の WNT での合意が見込まれている。

C-3. TG またはガイダンスの作成と提案

C-3-1. ヒト樹状細胞株を用いた *in vitro* 皮膚感作性検出法 h-CLAT

h-CLAT の TG は平成 28 年 4 月の OECD WNT 会議で承認され、同年 9 月に HP で公開された。最終的な TG を添付資料 3 に示す。

C-3-2. *in vitro* 皮膚感作性検出法 IL-8 Luc アッセイ

IL-8 Luc アッセイの開発者である東北大学 相場節也教授等と TG 案を作成し、OECD 事務局に平成 28 年 7 月に提出した。OECD での意見募集期間を経て、同年 11 月に開催された OECD 皮膚感作性試験専門家会議にて、本 TG 案が審議された。本会議で内諾を得た案について、WNT にて 2 回目の意見募集が実施された。

意見募集での主な指摘事項について 3 月の専門家会議にて以下のような議論がなされた。

1. 難水溶性物質への対策

本試験法は、難水溶性物質を溶解させるため、一般的な DMSO でなく、X-VIVO という溶解剤を用いている。しかも、このプロトコルでは被験物質を 20mg/mL となるように X-VIVO に加え、加温・超音波処理などの溶解操作後、遠心操作を加えて上澄みだけを段階希釈に用いることになっている。このプロトコルを用いることにより、DMSO を用いるよりも予測性が向上するというものである。

このプロトコルに対し、OECD の専門家からクレームがついた。陽性結果は受け入れられるが、陰性の場合、溶解性が低いがために陰性となった偽陰性を否定できないという理由である。ゆえに、陰性結果はすべて不採用にするという提案を受けた。最低でも、沈殿が除去された (難水溶性の) 陰性結果は採用できないという見解である。開発者の相場ら (すなわち、日本) がこの意見に同意せず、昨秋の専門家会議以降、抵抗が続いた。

結果として、Option 1 として、陰性結果で細胞毒性が 80% 以上認められない結果は採用できない。Option 2 として、難水溶性の陰性結果は採用できない。異例のことではあるが、以上の Option の選択

は決まっておらず、2017年のWNTに結論を委ねることになった。

2. 細胞の権利

本試験法に関するレポーター細胞の特許権は放棄されている。本来ならば、本細胞は公的な細胞バンクから供給されるべきである。相場らは本細胞を一企業でライセンス契約を付加して販売したいとの拘りを持っている。その理由として、2つのレポーター遺伝子の維持管理は簡単でなく、公的バンクには任せられないという理由である。

これに当たり、類似法の開発を促す性能標準を日本から提案することになった。

以上の問題が解決され、いずれかのoptionが選択されたTG案(添付資料4)が平成29年4月のOECD WNT会議で合意されることを目指している。

C-3-3. 光安全性試験スクリーニング ROS アッセイ

ROS アッセイの開発者である尾上分担研究者と共同でTG案を作成し、OECD事務局に平成28年9月に提出した。OECDでの意見募集が実施された。

C-3-4. *in vitro*発がん性スクリーニング Bhas法

Bhas細胞の起源はBalb/Cマウスではなく、swissマウスであることが医薬基盤・健康・栄養研究所の研究で明らかになった。経産省から意見書および改訂ガイダンス案がOECDに平成28年9月に提出されたことから、本内容を同年11月にパリで開催されたVMG-NA会議にて説明した。趣旨を説明し、ガイダンスの改訂に協力を得た。さらに追加で届いた細胞種の感度に関する英国やイタリアからの山影分担研究者らとコメントに対応した。

C-3-5. 生殖発生毒性試験Hand1 Luc EST

本試験法開発者の斎藤分担研究者らとともに、OECDにTGのSPSFを提出した。

C-3-6. 眼刺激性試験代替法Vitrigel-EIT

本試験法開発者の竹澤ら(国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構および関東化学株式会社)とともに、OECDにTG作成のSPSFを提出した。

C-3-7. 眼刺激性試験代替法LabCyte Cornea-model EIT

本試験法開発者の加藤ら(株式会社J-TEC)とともに、OECDにTG作成のSPSFを提出した。

C-3-8. アンドロジェンスクリーニングAR STTA assays

CHO-K1細胞の分与で生じた帰属権問題に対処するため、細胞の無料譲渡との記載のあるパラグラフを改訂したTG案を武吉ら(一般財団法人 化合物評価研究機構)とともに作成し、OECDに提案した。

3. 考察

本年度は昨年度に検討してきた日本発の皮膚感作性試験代替法h-CLATをOECD Test No. 442Eとして成立させることができた。さらに、主に、免疫抑制のAOP作成およびIL-8 Luc assayのTG成立を目指し、国際的な専門家と意見調整を繰り返し、成立の目途がついた。引き続き、上記2文書の成立を目指し、来年度成果として明示するべく、国際的な調整を進めていく所存である。

一方で、すでにOECDで成立した日本発の試験法であるBhas法やAR STTA assaysにおいても、用いられている細胞株で問題が生じている。成立したTGの管理に関しても、適切に解決していきたいと考えている。

4. 添付資料

- 1) AOPセミナー 講演資料
- 2) “Binding of FK506-binding protein 12 (FKBP12) by calcineurin inhibitors leading to immunosuppression”に関するAOP案
- 3) OECD Test No. 442E: In Vitro Skin Sensitisation, *Human Cell Line Activation Test (h-CLAT)*
- 4) OECD IL-8 Luc assay TG案

5. 研究発表

F-1. 論文発表

- 1) 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)

- 2) 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*.2016; Aug;52(7):742-8
 - 3) Yamaguchi H, Kojima H, Takezawa T: Predictive performance of the Vitrigel-eye irritancy test method using 118 chemicals, *J Appl Toxicol*. 2016 Aug;36(8):1025-37.
 - 4) 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)
 - 5) Uchino T, Kuroda Y, Ishida S, Yamashita K, Miyazaki H, Oshikata A, Shimizu K, Kojima H, Takezawa T, Akiyama T, Ikarashi Y: Increase of $\alpha 2$ -integrin on adhesion of THP-1 cells to collagen vitrigel membrane, *Biosci Biotechnol Biochem*. 2016; Jul 4:1-6
 - 6) 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, Kuehnl 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*. 2016; 33(3):272-321
 - 7) 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
 - 8) Kojima H., *Safety Assessment of Cosmetic Ingredients, COSMETIC SCIENCE AND TECHNOLOGY: THEORETICAL PRINCIPLES AND APPLICATIONS*, Elsevier 2017; 793-803
 - 9) 小島 肇: 医薬品に係わる新添加物の安全性評価, 月刊ファームステージ, 16(6), 1 (2016)
 - 10) 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)
 - 11) 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)
- F-2. 学会発表
- 1) 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)
 - 2) 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)
 - 3) 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, 増藺夕紀子, 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)
 - 4) 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)
 - 5) 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)
 - 6) 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)
- 7) Kojima H: Japanese activities for alternative to animal testing around the world, 6th Workshop & Training of Alternative Methods (2016.6) (Guangzhou, China)
 - 8) 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)
 - 9) 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)
 - 10) 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)
 - 11) Kojima H: Strategy on the OECD TG in Japan, 13th Annual meeting of Korean Society for Alternatives to Animal Experiments (2016.8) (Seoul, Korea)
 - 12) 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)
 - 13) 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)
 - 14) 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)
 - 15) 伊藤浩太, 榊原隆史, 古川正敏, 奥村宗平, 越田 美, 河村公太郎, 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法 (BCOP 法: 眼刺激性代替法試験) における角膜の病理組織学的検査による弱刺激性物質の評価, 日本動物実験代替法学会第 29 回大会 (2016.11)(福岡)
 - 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) 萩原沙織, 篠田伸介, 仲原 聡, 小島 肇, 大森 崇, 遠藤麻衣, 佐竹真悠子, 池田英史, 西浦英樹, 笠原利彦, 山本祐介, 加藤雅一, 菅原 桂: 培養角膜上皮モデル LabCyte CORNEA-MODEL24 眼刺激性試験の多施設バリデーション研究, 日本動物実験代替法学会第 29 回大会 (2016.11)(福岡)
 - 18) 加藤義直, 山本直樹, 佐藤 淳, 中田 悟, 小島 肇: 不死化ヒト角膜細胞株 (iHCE-NY) を用いて作製した三次元角膜再構築モデルの眼刺激性試験代替法 ~ 再構築ヒト角膜様上皮 (RhCE) 試験法用性能標準の 30 物質 (TG492PS) に対する回復性を取り入れた予測性 ~, 日本動物実験代替法学会第 29 回大会 (2016.11)(福岡)
 - 19) 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)
 - 20) 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)
 - 21) 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)
 - 22) 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)
 - 23) Kojima H: Guidance on use of alternative methods for testing in the safety assessment of cosmetics and quasi-drug,

Asian Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences (Asian Congress) 2016, (2016.11) (Karatsu, Saga)

- 24) 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)
- 25) Furukawa, M., Sakakibara, T., Kouta I., Kawamura, K., Matsuura, M., Kojima, H.: Special stain for detection of corneal histopathological changes in BCOP (Bovine Corneal Opacity and Permeability) assay, 56th Annual meeting of Society of Toxicology, March 12-16, Baltimore USA
- 26) 小島 肇: 日本における動物実験代替法研究の胎動, シンポジウム「日本における動物実験代替法の新たな技術展開」, 第90回日本薬理学会年会 (2017.3) (長崎)

6. 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

試験法ガイドライン

OECD Test No. 442E: In Vitro Skin

Sensitisation, *Human Cell Line Activation Test (h-CLAT)*