

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）  
OECD プログラムにおいて TG と DA を開発するための AOP に関する研究

平成30年度 総括研究報告書

研究代表者 小島 肇

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 安全性予測評価部 室長

### 研究要旨

動物実験 3Rs の国際的な浸透に加えて、実験動物とヒトとの種差等の克服のために、既存の毒性試験法の見直しが進んでいる。経済協力開発機構（OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development）においても、反復投与毒性、生殖発生毒性、感作性、発がん性などの有害性発現経路（AOP: Adverse Outcome Pathway）を開発し、動物実験代替法（以下、代替法）を念頭においた試験法ガイドライン（TG: Test Guideline）の公定化や *in silico* 法の確立に AOP 情報を活用する戦略がある。一方で、毒性情報を網羅した IATA (Integrated Approaches to Testing and Assessment) を開発し、それに基づく DA (Defined Approach) により化学物質の安全性評価を推進する戦略がある。DA とは、単独の代替法ではなく、種々の試験データを組み合わせて化学物質の全身毒性を把握しようとする試みであり、OECD では DA に関する TG の行政的利用が検討されている。このような国際的な潮流に乗り、日本が得意とする分野で主導権を握って、AOP や TG を公定化し、さらには IATA や DA の TG の開発及び普及に協力することが本研究班の目的である。

昨年度からの継続した活動の中、本年度に OECD の TG や AOP が採択されたものはなかった。ただし、来年度に 3 試験法の TG、1 件の AOP を成立できる目途がたった。

研究分担者氏名・所属研究機関名及び 所属研究機関における職名	相場節也	国立大学法人 東北大学 大学院医学系研究科 教授
	大森清美	神奈川県衛生研究所 理化学部 主任研究員
小川久美子 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 病理部長	尾上誠良	静岡県立大学 薬学部・薬剤 学分野 教授
チョウ ヨンマン 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 病理部 室長	足利太可雄	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 安全性予測評価部 主任研究官
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 病理部 客員研究員	杉山圭一	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 変異遺伝部 室長

松下幸平 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  
病理部 主任研究官

山田隆志 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  
安全性予測評価部 室長

## A. 研究目的

本研究班では、OECD の AOP 開発プロジェクトの中で、化学物質の毒性情報等を集積しながら、免疫毒性、生殖発生毒性、発がん性及び光安全性等に関する日本発の AOP 開発を進める。特に、非遺伝毒性発がんは、催乳ホルモン (prolactin) や甲状腺刺激ホルモン (TSH)、甲状腺ホルモン (T4) を含む各種ホルモンレベルの増加と関連しているものも多く、それらは発がん性の KE (Key Event) となり得る。そこで、通常の反復投与毒性試験のプロトコルで採取される下垂体、甲状腺などを用いて prolactin、TSH、T4 などの発現量の増減を免疫組織化学染色法によって半定量する評価方法の確立を目指す。さらに、腎毒性の作用機構の開発も行う。これらや既存の AOP 情報をもとに開発された皮膚感作性試験代替法 ADRA (Amino acid Derivative Reactivity Assay)、免疫毒性試験 MITA (Multi-Immuno Toxicity Assay)、発生毒性試験スクリーニング Hand1-Luc EST (Embryonic Stem cell Test)、光安全性試験スクリーニング ROS (Reactive Oxygen Species) アッセイ、LabCyte EPI-MODEL24 を用いる腐食性試験代替法、形質転換試験 Bhas42 法及びラット肝中期発がん性試験については、試験法毎に独立した国内外の専門家による第三者評価 (peer review) を受けた後、TG を開発する。一方で、OECD での非遺伝毒性

発がん IATA 及び皮膚感作性 DA の TG の開発に関与することを通じて、IATA や DA の国内での普及に務める。

## B. 研究方法

B.1. AOP、TG、DA の開発、AOP 国内マニュアルの作成 (小島)

OECD の AOP 開発プロジェクト EAGMST (Extended Advisory Group on Molecular Screening and Toxicogenomics) 及び、TGの開発プロジェクトWNT (Working Group of the National Coordinators of the Test Guidelines Programme) の進捗に合わせ、分担及び協力研究者を支援した。

AOPマニュアルを作成するため、EAGMST の資料を再調査した。

B.2. TG 開発

B.2.1. TG の採択に向けた動向 (小島、尾上)

日本から提案している試験法である皮膚感作性試験代替法 ADRA、光安全性試験 ROS アッセイ (尾上分担研究者との協同研究)、LabCyte EPI-MODEL24 を用いる腐食性試験代替法の TG 採択のために、電話会議や専門家会議にて交渉した。

B.2.2. 免疫毒性 TG の提案 (小島、相場)

分担研究者の相場が開発し、他の研究班でバリデーションを終了させた IL-2 を指標とした免疫毒性試験の TG を目指し、海外の専門家を招聘したバリデーション報告書の peer review 会議を企画した。また、*in vitro* 免疫毒性試験に関する Detailed Review Paper(DRP) の SPSF を作成し、OECD に提案した。

### B.2.3. 発がん性 TG の提案 (小川)

1990～2000 年代に名古屋市立大学のグループで開発され、既に厚生労働省の化学物質発がん性スクリーニングに採用されているラット肝中期発がん性試験の TG 申請を行うための資料を整理し、SPSF を OECD に提案した。

### B.2.4. Bhas42 細胞形質転換試験法の TG 開発 (大森)

Bhas42 細胞形質転換試験法 (Bhas42CTA) は、化学物質の非遺伝毒性発がん性を遺伝毒性発がん性と区別して検出できる試験法 (OECD ガイダンスドキュメント No.231) である。OECD NGTxC IATA の専門家会議において、Bhas42CTA における非遺伝毒性発がん性発現の機序解析データを提供した。

## B.3. AOPの開発

### B.3.1. 免疫毒性のAOP開発 (小島、足利、相場、久田)

AOP に関しては、日本免疫毒性学会会員をメンバーとする同学会試験法委員会 AOP 検討小委員会に免疫毒性 AOP の開発を委託している。

- 1) 文献調査の結果に基づいて、カルシニューリン阻害を Molecular initiating event (MIE) とし、T 細胞依存性抗体産生抑制 (TDAR) を Adverse outcome (AO) とする AOP154 案 Inhibition of Calcineurin Activity Leading to impaired T-Cell Dependent Antibody Response を作成した。
- 2) 新たに免疫毒性 3 件の AOP を開発した。AOP の作成対象を決定し、文献調査に

基づいて、MIE、AO 及びその間に介在する KE を定めて、SPSF (Standard Project Submission Form) を OECD に提案した。

- 3) IL-2 を分子初動因子とした AOP 開発を OECD に申請済みであり、その作成を継続し、来年度の成立を目指した。

### B.3.2. 発がん性 AOP の開発 (西川、小川、久田)

- 1) 研究分担者の西川及び小川は、細胞毒性を初動因子とした鼻腔発がんの AOP 開発を OECD に申請済みであり、細胞傷害と腫瘍発生との関連に係るデータ解析を進め、AOP 作成を継続し、再来年度の成立を目指した
- 2) 日本製薬工業会グループ (久田茂ほか) の協力を得て、ラットにおける非遺伝毒性発がん性 AOP の作成を開始し、SPSF を OECD に提案した。

### B.3.3 光安全性の AOP 開発 (尾上)

光化学的特性に焦点を当てた光毒性に関する AOP 案を作成した。

## B.4. IATA 及び DA の開発

### B.4.1. IATA の開発協力 (西川、小川、大森)

OECD では、非遺伝毒性発がん性 (NGTxC) 検出を目的とした IATA の開発が行われており、この専門委員会のメンバーとして IATA の開発に協力した。

### B.4.2. DA の開発協力 (小島、足利)

OECD における皮膚感作性試験の DA の開発に協力した。

#### B.5. 非遺伝毒性発がんの免疫組織化学染色による評価法確立 (チョウ)

6 週齢 SD ラット (雌雄各群 5 匹) に被験物質を経口投与し、28 日目にイソフルラン吸入麻酔下にて後大動脈からの採血後、放血による安楽死を行った。甲状腺、下垂体、卵巣、子宮、精巣及び副腎を用いて T3、T4、TSH、ACTH、calcitonin、 $\beta$ -actin、estrogen、progesterone、黄体形成ホルモン (LH)、卵巣刺激ホルモン (FSH)、prolactin、testosterone などの免疫染色による解析及び血中濃度測定を実施した。動物実験は対照群、1000 ppm aminotriazole (AMT) 群、20 ppm vitamin D3 (VD3) 群、50 ppm propylthiouracil (PTU) 群、500 ppm phenobarbital (PB) 群、6000 ppm aminoglutethimide (AGT) 群、10 ppm estradiol (E2) 群の 7 群を設置した。AMT、PTU は飲水、VD3、PB、AGT、E2 は混餌投与した。投与量は過去に報告されている短・中期試験の最大耐量に基づき設定した。

#### B.6. 遺伝毒性の AOP 開発 (杉山)

非遺伝毒性発がんの AOP への組み込みを想定した新規エピジェネティック変異原試験「FLO アッセイ」の妥当性評価に関する研究を行った。同試験系のプロトタイプは、既に開発している。今年度は遺伝毒性の判定は困難であるものの、国際がん研究機関より発がん性がクラス 2B に分類されているかび毒オクラトキシン A を被験物質に、同化学物質のエピジェネティック変異原性を検討した。

#### B.7. 腎障害の分子メカニズムに関する研究 (松下)

10 週齢の雌雄 F344 ラット片側腎 (左腎臓) 摘出術を施し、残存腎における代償性肥大の分子機構を解明した。この代償性肥大は腎障害の発現機序に関わらず共通して生じる現象であることから、その発現機序を詳細に理解することにより、新しい腎障害評価分子を抽出することが期待できる。具体的には、雌雄ラットに片側腎摘出術を施して残存腎組織を採材し、細胞増殖活性を免疫組織学的及び遺伝子発現解析により検索し、網羅的遺伝子発現解析として、mRNA 及び microRNA(miRNA) の発現を解析した。

これにより、腎毒性の AOP 作成に資する情報を得る。

#### B.8. 光安全性試験の追加検討 (尾上)

光毒性化合物である acridine (ACD)、furosemide (FSM)、hexachlorophene (HCP)、8-methoxypsoralen (MOP)、norfloxacin (NFX) 及び promethazine (PMZ) の UV 吸収測定及び ROS アッセイを実施した。Franz 型拡散セルを用いてラット摘出皮膚における被験物質 (各 1 mg/mL) の *in vitro* 皮膚透過性を評価し、定常状態における被験物質の皮膚内濃度を算出した。比較試験として、ラットを用いた *in vivo* 光毒性試験を実施し、被験物質 (10 mg/site) をラット腹部皮膚に塗布後の皮膚光毒性を評価した。

#### B.9. 毒性等情報収集 (山田)

公募型研究で実施する化学物質の毒性等の情報をとりまとめ、整理された毒性等の情報に基づき、文献や報告書の検索の効率化や AOP 開発に資するため、以下の公共データベース及び厚労科研化学リスク

研究事業総合報告書情報を調査した。

- 1) NITE 化学物質総合情報提供システム (CHRIP;[https://www.nite.go.jp/chem/chrip/chrip\\_search/systemTop](https://www.nite.go.jp/chem/chrip/chrip_search/systemTop))
- 2) PubChem(National Center for Biotechnology Information) (<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/>)
- 3) 厚労科研化学物質リスク研究事業 多色発光細胞を用いた high-throughput 免疫毒性評価試験法の開発 平成 24 年度～26 年度総合研究報告書 (研究代表者 相場節也)

(倫理面への配慮)

本研究は動物実験の3Rsに配慮して、動物実験委員会の承認のもとに基本指針を遵守して実施し、動物使用数や動物に与える苦痛は最小限に留めた。ボランティア及びヒト組織は使用しなかった。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、TG、DA の開発、AOP 国内マニュアルの作成 (小島)

AOP マニュアルを作成するため、EAGMST の資料を再調査し、以下の 2 報を用いることにした。

- 1) USERS' HANDBOOK SUPPLEMENT TO THE GUIDANCE DOCUMENT FOR DEVELOPING AND ASSESSING AOP
- 2) Revised Guidance Document on Developing and Assessing Adverse Outcome Pathways

### C.2. TG 開発

#### C.2.1. TG の採択に向けた動向 (小島、尾上)

#### 1)皮膚感作性試験

皮膚感作性試験代替法 ADRA の TG 開発を、開発者の富士フィルムや国内外の専門家の協力を受け進めた。2 度に渡り、WNT から TG への意見を受け、修正して対応した。この結果、4 月の WNT 会議にて、採択が内定した。

#### 2)光安全性試験

ROS アッセイの TG 開発を国内外の専門家と密な連携をとり進めた。WNT から TG への意見を受け、修正して対応した。この結果、4 月の WNT 会議にて、採択が内定した。

#### 3)腐食性試験

LabCyte EPI-MODEL24 を用いる腐食性試験代替法の TG 開発を、開発者の株式会社 J-TEC と密な連携をとりつつ進めた。WNT から TG への意見を受け、修正して対応した。この結果、4 月の WNT 会議にて、採択が内定した。

#### C.2.2. 免疫毒性 TG の提案 (小島、相場)

海外の専門家を招聘し、IL-2 Luc アッセイバリデーション報告書の peer review 会議を 2019 年 2 月 27 日から 28 日まで、東京にて開催した。外部評価委員として Henk van Loveren (Maastricht University, Netherland), Haley LaNef Ford (Seattle Genetics, Inc., USA), Barbara Kaplan (Mississippi State University, USA), Sang-Hyun Kim (Kyungpook National University, Korea), Fujio Kayama (Jichi Medical University, Japan), Takao Ashikaga (National Institute of Health Sciences, Japan)を招請した。また、Xingchao Geng (National Center for Safety Evaluation of Drugs (NCSED), China)は電話会議にて参加した。

Peer review会議において、バリデーション報告書に対し、別紙1に示す提案が届き、次年度に対応予定である。

また、今後、相場らの開発した *in vitro* 免疫毒性試験を円滑に TG に導くための準備として、本件に関する昨今の状況をまとめた DRP の SPSF を OECD に提案し（添付資料4）、2019年4月の OECD WNT 会議で作業計画として採択された。

### C.2.3. 発がん性 TG の提案（小川）

ラット肝中期発がん性試験の TG 申請を行うために、関連論文等の資料を整理し、SPSF を OECD に提出した。この SPSF に対し、OECD 加盟各国からコメントがあり、対応して SPSF を改訂した。この結果、4月の WNT 会議にて、作業計画への承認は見送られた。

### C.2.4. Bhas42 細胞形質転換試験法の TG 開発（大森）

OECD NGTxC・IATA の専門家委員会にて、Bhas42CTA(プロモーション試験)の試験法テンプレート（Bhas 42 Cell transformation assay template (promotion test)）を作成し、NGTxC assay template として提出した。6月に OECD で開催された 3rd Meeting of the expert group for the development of an IATA for Non Genotoxic Carcinogen (OECD, 2018年6月) では、”Bhas 42 cell transformation assay (Bhas 42 CTA)”のプレゼンテーション実施し、Bhas42CTA 研究の背景と機序解析の進捗状況を報告した。また、形質転換試験と代謝協同阻害試験テンプレート作成を分担した。

## C.3. AOPの開発

### C.3.1. 免疫毒性のAOP開発（小島、足利、相場、久田）

1) AOP154 案 “Inhibition of calcineurin inhibition leading to impaired T cell-dependent antibody response”に関しては、EAGMST の内部 peer reviewer のコメントに対応して、主に key event relationship (KER)における定量的な理解 (quantitative understanding) を中心に修正・追記した。6月28日の EAGMST 会議において更新した AOP154 が内部 peer review を通過し、外部 peer review に進むこととなった。現在、外部 peer review に向けた内部 peer reviewer への指摘に対応している。

2) IL-2 を MIE とする AOP 案を AOP wiki に入力した。来年度に内部 peer review に進むことを期待している。

3) 2018年2月から、Janus kinase (JAK)-Signal Transducers and Activator of Transcription (STAT)、Aryl Hydrocarbon Receptor (AhR)、Estrogen receptor (ER)に対象を絞って文献調査を実施し、AOP の概要を検討した。その結果、MIE 及び AO をそれぞれ、1) JAK3 阻害及び TDAR 抑制、2) Toll-like receptor (TLR)7 活性化及び乾癬様皮膚炎発生、3) ER 活性化及びアレルギー性皮膚疾患の増悪、とする AOP の開発を決定し、それぞれ SPSF を作成して、11月に OECD に提出した。これらの SPSF は12月18日の EAGMST 電話会議において協議され、ER 受容体活性化に関しては内容の再考が求められた。

### C.3.2. 発がん性 AOP の開発（西川、小川、久田）

1) 細胞毒性を初動因子とした鼻腔発がんの AOP 開発を OECD に申請済みであり、細胞傷害と腫瘍発生との関連に係るデータ解析を進めたところ、他の細胞毒性を初動因子とした AOP の成立が少ないことを鑑み、まずは、これまでに取りまとめたデータについて論文を先行させる準備をしている。

2) ラットにおける非遺伝毒性発がん性 AOP の SPSF13 件(表1)を作成し、研究代表者(小島)を介して OECD に提案したところ、12月の EAGMST 会議において議論された。

表1 本年度提案した発がん性 AOP

No	MIE (機序)
1	トリプシン抑制
2	Vitamin D3 受容体活性化 (Ca 恒常性変化)
3	難吸収性炭水化物 (Ca 恒常性変化)
4	Sodium glucose cotransporter 1 阻害 (Ca 恒常性変化)
5	Vesicular monoamine transporter (VMTA) 阻害 (レセルピン)
6	ドパミン D2 受容体阻害
7	プロトンポンプ阻害 (高ガストリン)
8	H2 受容体阻害 (高ガストリン)
9	GLP-1 受容体活性化
10	$\alpha$ -glucosidase 阻害 (Ca 恒常性変化)
11	ドパミン D2 受容体阻害
12	難吸収性炭水化物 (Ca 恒常性変化)
13	ドパミン D2 受容体刺激

### C.3.3. 光安全性の AOP 開発 (尾上)

AOP 案を AOP wiki に入力した。来年度に内部 peer review に進むことを期待している。

### C.4. IATA 及び DA の開発

#### C.4.1. IATA の開発協力(西川、小川、大森)

6月に OECD で開催された 3rd Meeting of the expert group for the development of an IATA for Non Genotoxic Carcinogen (OECD, 2018年6月)にて、IATA の開発に協力した。

#### C.4.2. DA の開発協力 (小島、足利)

OECD 専門家会議(電話会議や対面会議)で皮膚感作性 DA に関する TG の開発に寄与した。

現在、ヒト及び動物実験結果の再評価、適用限界の明確化、不確定要素の解決法について、それぞれサブワーキンググループが討議しており、その提案を待って DA の最終的な議論が来年度になされる予定である。

### C.5. 非遺伝毒性発がんの免疫組織化学染色による評価法確立 (チョウ)

既存のラット甲状腺及び下垂体のサンプルを用いて、ACTH (下垂体、抗原賦活化: クエン酸緩衝液 pH6.0 (関東化学)、Autoclaving 121°C 15min、希釈倍率: x16,000)、prolactin (下垂体、抗原賦活化: Antigen retrieval solution pH9.0 (Dako)、Autoclaving 121°C 15min、希釈倍率: x8,000)、thyroxin (甲状腺、抗原賦活化: クエン酸緩衝液 pH6.0 (関東化学)、Autoclaving 121°C 15min、希釈倍率: x2,000)

及び calcitonin (甲状腺、抗原賦活化：クエン酸緩衝液 pH6.0 (関東化学)、Autoclaving 121°C 15min、希釈倍率：x200) 抗体の免疫染色条件を確立した。

今後は染色可能な抗体を増やすとともに、映像解析ソフトを用いた輝度の測定及びハウスキーピング蛋白による標準化方法を確立し、陽性細胞の輝度データが実際の血液中ホルモン濃度との相関を検討する。

#### C.6. 遺伝毒性の AOP 開発 (杉山)

解析の結果、オクラトキシン A はエピジェネティック制御下にある酵母凝集遺伝子 *FLO1* の転写レベルを抑制することが明らかとなった。また、そのメカニズムとして DNA メチル化阻害が示唆される結果も得た。したがって、オクラトキシン A は DNA メチル化阻害を機序とするエピジェネティック変異原である可能性が考えられる。

#### C.7. 腎障害の分子メカニズムに関する研究 (松下)

雌雄ともに残存腎の組織学的解析では、処置後 2 及び 3 日において近位尿管、近位直尿管及び遠位尿管の BrdU 陽性細胞率が対照群と比して有意な上昇あるいは上昇傾向を示した。また、雌雄ともに尿管の細胞周期停止及び肥大に関わるとされている transforming growth factor (TGF)- $\beta$ 1 の mRNA 発現に処置による影響はみられなかった。mRNA マイクロアレイ解析では、対照群と比して処置群において雄では 320 個、雌では 233 個の遺伝子の発現が変動しており、それらの多くが細胞周

期に関連する遺伝子の発現上昇であった。雄ラットにおける miRNA マイクロアレイ解析では対照群と比して処置群において 9 個の miRNA (miR-1843a-5p、miR-1843a-3p、miR-194-3p、miR-222-3p、miR-31-5p、miR-340-5p、miR-450-5p、miR-653-5p、miR-9a-3p) 発現が変動しており、全て発現低下を示した。

#### C.8. 光安全性試験の追加検討 (尾上)

全被験物質は UVA/B 領域において高い UV 吸収特性ならびに擬似太陽光照射時に強い ROS 産生を認め、特に ACD は高い光反応性を示した。*In vitro* 皮膚内動態評価より、予測した皮膚中濃度は HCP 及び MOP がそれぞれ 101 及び 145  $\mu$ g/mL と高く、FSM の皮膚中濃度は 3  $\mu$ g/mL と最も低値を示した。光反応性及び *in vitro* 皮膚内動態の統合的解析より被験物質の光毒性リスクは HCP > ACD > MOP > PMZ > NFX > FSM の順であると予測した。今回構築した *in vitro* 光安全性評価系により予測した光毒性リスクはラットにおける *in vivo* 光毒性の強さ (ACD > HCP  $\approx$  MOP > FSM  $\approx$  PMZ > NFX) と良好に対応した。

#### C.9. 毒性等情報収集 (山田)

収集した毒性情報は、Excel (Microsoft 社) 及び化学物質関連情報を収載するデータベースソフトウェアとして広く利用されている ChemFinder (Hulinks 社)、InstantJChem (ChemAxon 社) で閲覧・検索することを想定し、データ項目として、以下を仮設定した。

- 1) 化学物質情報 (CAS No., 物質名称 (日本語名、英語名)、SMILES (OECD

QSAR Toolbox, ChemSpider, PubChem 形式)、InChI Key 等)

- 2) *In vitro* バイオアッセイ情報 (免疫毒性評価試験 MITA の情報とその元文献情報)
- 3) *In vivo* バイオアッセイ情報 (免疫毒性; 免疫抑制、免疫亢進、感作性とアレルギー反応、自己免疫と自己免疫疾患等情報とその元文献情報)
- 4) 国内外有害性評価書またはリスク評価書情報
- 5) 国内外法規制情報 (化審法、化管法、安衛法、毒劇法、EU CLP 等)

#### C.10. 国際情報調査 (稲若)

日本発の試験法を国際的なTGにする重要な情報として、OECDの試験法公定化の最新状況について調査した。また、国際機関等でのAOPやIATA開発の関連情報を収集した。

### D. 考察

#### D.1. TG の開発

皮膚感作性試験代替法 ADRA、光安全性 ROS アッセイ及び LabCyte EPI-MODEL24 を用いる腐食性試験代替法に関しては、今年度の OECD WNT 及び各国専門家との調整を通して、本年 4 月の WNT にて TG 案の採択が内定した。一年で 3 試験法を TG として採択できる機会は極めて稀であるが、最後まで気を引き締めて WNT との交渉に臨みたい。

腐食性試験代替法の TG431 に日本発の表皮モデルである LabCyte EPI-MODEL24 が加わることにより、毒物劇物の腐食性判定に代替法を用いることができる可能性が高くなる。TG431 が正式に改定され次第、行

政的な受け入れに関する厚生労働省への働きかけを開始したい。

一方、新たに *in vitro* 免疫毒性 DRP の開発及びラット肝中期発がん性試験 TG のための SPSF を OECD に昨年 11 月に提出し、*in vitro* 免疫毒性 DRP は本年 4 月に WNT で採択された。引き続き、日本から OECD TG への働きかけを続けていきたい。

#### D.2. AOP の開発

本研究班から提案している免疫抑制の AOP154 案 "Inhibition of Calcineurin Activity Leading to impaired T-Cell Dependent Antibody Response" は EAGMST における内部 peer review が終了し、外部 peer review が始まる。外部 peer review 終了まであと一息となった。来年度には必ず成立させたい。他にも光安全性、免疫抑制 (IL-2 の発現) は AOP wiki の入力段階にあり、これらについては、来年度には内部 peer review に進むことを期待している。

新たに、免疫毒性で 3 件、非遺伝毒性発がん 13 件の SPSF を OECD に昨年末に提出しており、今後の種々の AOP を成立させることができると考えている。

#### D.3. IATA 及び DA の成立

非発がん性 IATA や感作性 DA に関する OECD 活動に対し、引き続き協力していく予定である。来年度は光安全性 IATA の開発を OECD に提案する予定であり、動物実験を用いない安全性評価の体系化を日本からも進めていく予定である。

#### D.4. TG 及び AOP の作成に寄与する実験

AOP 開発を支援する評価法の確立にお

いては、非遺伝毒性発がん検出のための甲状腺及び下垂体ホルモン等免疫組織化学染色条件の確立、エピジェニック変異原性のメカニズム解析、腎毒性における尿細管再生機構に関する解析を進めており、これらの成果を AOP 開発に生かせるような研究の進展を期待している。

まだ本研究班での検討は一年しか立っていないが、新たな知見が得られている。中間評価までには、成果を明らかにし、今後の TG や AOP への寄与のあり方を考えていきたい。

#### D.5. 毒性等情報収集

平成 30 年度終了予定の厚生労働科学研究費補助金化学物質リスク研究事業の総合研究報告書をもとにして、データベースのデータ項目の追加と再検討を行い、Excel のスプレッドシートのフォーマットでデータの入力を行う予定である。

#### E. 結論

昨年度からの OECD への継続した活動の中、本年度に TG や AOP が採択されたものはなかった。ただし、来年度に 3 試験法の TG、1 件の AOP を成立できる目途があった。

引き続き、OECD の活動の中で、日本が得意とする分野で主導権を握って、AOP や TG を公定化し、さらには IATA や DA の TG の開発に協力していく予定である。

#### F. 健康危険情報

特になし

#### G. 研究発表

##### G.1. 論文発表

1. 小島 肇: 皮膚・粘膜毒性, トキシコロジー第 3 版, 朝倉書店, 279-286.
2. 小島 肇: 動物実験代替法, トキシコロジー第 3 版, 朝倉書店, 320-325.
3. 小島 肇: 創薬のための細胞利用技術の最新動向と市場, 第 1 章 利用できる細胞の種類, 細胞ソース, 第 1 節 in vitro 実験の重要性と培養細胞の選択方法, (株)シーエムシー・リサーチ, 3-6.
4. 山田 隆志. OECD における QSAR、AOP の開発状況. 皮膚の安全性・有用性評価法. 技術情報協会. 2018, 4-3, 151-157.
5. Fujita M, Yamamoto Y, Watanabe S, Sugawara T, Wakabayashi K, Tahara Y, Horie N, Fujimoto K, Kusakari K, Kurokawa Y, Kawakami T, Kojima K, Kojima H, Ono A, Katsuoka Y, Tanabe H, Yokoyama H, Kasahara T: Cause of and countermeasures for oxidation of the cysteine-derived reagent used in the amino acid derivative reactivity assay, J Appl Toxicol. 2019 Feb;39(2):191-208. doi: 10.1002/jat.3707.
6. Mitachi T, Kouzui M, Maruyama R, Yamashita K, Ogata S, Kojima H, Itagaki H: Some non-sensitizers upregulate CD54 expression by activation of the NLRP3 inflammasome in THP-1 cells. J Toxicol Sci. 2019;44(3):213-224. doi: 10.2131/jts.44.213.
7. 小島 肇: 化学物質の毒性評価方法の現状と今後, 化学物質と環境, エコケミストリー研究会, 2019;154, 1-3.
8. Sone M, Toyoda T, Cho YM, Akagi JI, Matsushita K, Mizuta Y, Morikawa T,

- Nishikawa A, Ogawa K. Immunohistochemistry of  $\gamma$ -H2AX as a method of early detection of urinary bladder carcinogenicity in mice. *J Appl Toxicol*. 2019 Jan 31. doi: 10.1002/jat.3775.
9. Toyoda, T., Matsushita, K., Morikawa, T., Yamada, T., Miyoshi, N., Ogawa, K. Distinct differences in the mechanisms of mucosal damage and  $\gamma$ -H2AX formation in the rat urinary bladder treated with o-toluidine and o-anisidine. *Arch Toxicol*, 93:753-762, 2019.
  10. Iyama Y, Sato H, Seto Y, Onoue S. Photochemical and Pharmacokinetic Characterization of Orally Administered Chemicals to Evaluate Phototoxic Risk, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 108: 1303–1308, 2019.
  11. Sugiyama KI, Furusawa H, Grúz P, Kinoshita M, Honma M. Inhibitory effect of ochratoxin A on DNMT-mediated flocculation of yeast. *Mutagenesis*. 2019 Mar 10. pii: gez002. doi: 10.1093/mutage/gez002.
  12. Petkov PI, Schultz TW, Honma M. Yamada T, Kaloyanova E, Mekenya OG. Validation of the performance of TIMES genotoxicity models with EFSA pesticide data. *Mutagenesis*. 2019, 34, 83-90.
  13. Yamada T, Matsumoto M, Miura M, Hirose A. Case study on the use of integrated approaches to testing and assessment for testicular toxicity of ethylene glycol methyl ether (EGME)-related chemicals. Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD), in press, 2019.
  14. 中村和昭, 諫田泰成, 山崎大樹, 片岡 健, 青井貴之, 中川誠人, 藤井万紀子, 阿久津英憲, 末盛博文, 浅香 勲, 中村幸夫, 小島 肇, 伊藤弓弦, 関野祐子, 古江一楠 田美保 : 「培養細胞の観察の基本原則」の提案, *組織培養研究*, 2018; 37(2), 123-131.
  15. 小島 肇 : 化学物質や医薬品などの安全性評価に用いる動物実験代替法の技術開発の現状と展望, *イルシー Japan*, 2018;136, 23-31.
  16. Kimura Y, Watanabe M, Suzuki N, Iwaki T, Yamakage K, Saito K, Nakajima Y, Fujimura C, Ohmiya Y, Omori T, Kojima H, Aiba S: The performance of an in vitro skin sensitisation test, IL-8 Luc assay (OECD442E), and the integrated approach with direct peptide reactive assay (DPRA), *J Toxicol Sci*. 2018; 43(12):741-749. doi: 10.2131/jts.43.741.
  17. Kawai A, Goto T, Shibata T, Tani K, Mizutani S, Nishikawa A, Shibata T, Matsumoto S, Nagata K, Narukawa M, Matsui S, Ando M, Toguchida J, Monden M, Heike T, Kimura S, Ueda R. Current state of therapeutic development for rare cancers in Japan, and proposals for improvement. *Cancer Sci*. 2018 May;109(5):1731-1737. doi: 10.1111/cas.13568.
  18. Toyoda T, Cho YM, Akagi JI, Mizuta Y, Matsushita K, Nishikawa A, Imaida K, Ogawa K. A 13-week subchronic toxicity study of acetaminophen using an obese rat model. *J Toxicol Sci*. 2018;43(7):423-433. doi: 10.2131/jts.43.423.
  19. Tsuchiya T, Kijima A, Ishii Y, Takasu S, Yokoo Y, Nishikawa A, Yanai T, Umemura T. Role of oxidative stress in the chemical

- structure-related genotoxicity of nitrofurantoin in Nrf2-deficient gpt delta mice. *J Toxicol Pathol.* 2018 Jul;31(3):169-178. doi: 10.1293/tox.2018-0014.
20. Tsuchiya T, Kijima A, Ishii Y, Takasu S, Yokoo Y, Nishikawa A, Yanai T, Umemura T. Mechanisms of oxidative stress-induced in vivo mutagenicity by potassium bromate and nitrofurantoin. *J Toxicol Pathol.* 2018 Jul;31(3):179-188. doi: 10.1293/tox.2018-0024.
21. Kimura Y, Fujimura C, Ito Y, Takahashi T, Terui H, Aiba S, Profiling the immunotoxicity of chemicals based on in vitro evaluation by a combination of the Multi-ImmunoTox assay and the IL-8 Luc assay. *Arch Toxicol.* 2018 Jun;92(6):2043-2054. doi: 10.1007/s00204-018-2199-7.
22. 世戸孝樹, 佐藤秀行, 尾上誠良, 医薬品の光安全性評価: 光化学及び薬物動態学の観点からのアプローチ, 医薬品安全性学, 3(2): 81–92, 2018.
23. Van Viet E., Kuhl J, Goebel C, Martinozzi-Teisier S, Alepe N, Ashikaga T, et al., State-of-the-Art and New Options to Assess T Cell Activation by Skin Sensitizers: Cosmetics Europe Workshop, 2018, ALTEX, 35(2), 179-192. Doi:10.14573/altex.1709011
24. Hoffmann S, Kleinstreuer N, Alepe N, Allen D, Marie Api A, Ashikaga T, et al., Non-animal methods to predict skin sensitization (I): the Cosmetics Europe database, *CRITICAL REVIEWS IN TOXICOLOGY*, 2018, 48 (5), 344–358. Doi:10.1080/10408444.2018.1429385
25. Kleinstreuer N, Hoffmann S, Alepe N, Allen D, Ashikaga T, et al., Non-animal methods to predict skin sensitization (II): an assessment of defined approaches, *CRITICAL REVIEWS IN TOXICOLOGY*, 2018 48 (5), 359–374. Doi:10.1080/10408444.2018.1429386
26. Hirota M, Ashikaga T and Kouzuki Y, Development of an artificial neural network model for risk assessment of skin sensitization using human cell line activation test, direct peptide reactivity assay, KeratinoSens™ and in silico structure alert parameter, *J. Appl. Toxicol.*, 2018, 38 (4), 514-526. DOI: 10.1002/jat.3558
27. Matsushita K, Takasu S, Kuroda K, Ishii Y, Kijima A, Ogawa K, Umemura T. Mechanisms underlying exacerbation of osmotic nephrosis caused by pre-existing kidney injury. *Toxicological sciences*, 2018, 165 (2), 420-430.
28. Matsushita K, Toyoda T, Morikawa T, Takahashi M, Inoue K, Ogawa K. A 13-week subchronic toxicity study of 2-ethylbutanal in F344 rats. *Regulatory toxicology and pharmacology*, 2018, 100, 118-126.
29. Toyoda T, Totsuka Y, Matsushita K, Morikawa T, Miyoshi N, Wakabayashi K, Ogawa K.  $\gamma$ -H2AX formation in the urinary bladder of rats treated with two nonharman derivatives obtained from o-toluidine and aniline. *Journal of Applied Toxicology*. 2018, 38 (4), 537-543.
30. Matsumoto M, Furukawa M, Kobayashi K, Iso T, Igarashi T, Yamada T, Hirose A. A 28-day repeated oral-dose toxicity study of insecticide synergist N-(2-ethyl-hexyl)-1-

- isopropyl-4-methylbicyclo[2.2.2]oct-5-ene-2,3-dicarboximide in rats. *Fundam. Toxicol. Sci.* 2018, 5, 1-11.
31. Yamada T, Tanaka Y, Hasegawa R, Igarashi T, Hirose A. Male-specific prolongation of prothombin time by industrial chemicals. *Fundam. Toxicol. Sci.* 2018, 5, 75-82.
  32. Igarashi T, Serizawa H, Kobayashi K, Suzuki H, Matsumoto M, Iso T, Kawamura T, Inoue K, Ono A, Yamada T, Hirose A. Initial hazard assessment of 4-benzylphenol, a structural analog of bisphenol F: Genotoxicity tests in vitro and a 28-day repeated-dose toxicity study in rats. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 2018, 96, 64-75.
  33. Chesnut M, Yamada T, Adams T, Knight D, Kleinstreuer N, Kass G, Luechtefeld T, Hartung T. Regulatory acceptance of read-across. *ALTEX.* 2018, 35, 413-419.
  34. Igarashi T, Takashima H, Takabe M, Suzuki H, Ushida K, Kawamura T, Matsumoto M, Iso T, Tanabe S, Inoue K, Ono A, Yamada T, Hirose A. Initial hazard assessment of benzyl salicylate: In vitro genotoxicity test and combined repeated-dose and reproductive/developmental toxicity screening test in rats. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 2018, 100, 105-117.
- F.2. 学会発表
1. New trend on alternative to animal testing in Japan, Kojima H, *OpenTox* 2018, 2018/5/24, 国内.
  2. Alternative Test Methods Developed in Japan and South Korea for Regulatory Use, Kojima H, 8th Conference of Alternative Methods, 2018/6/12, 国外.
  3. In vitroモデルの創薬開発への活用, 小島 肇, 日本組織培養学会第91回大会, 2018/6/16, 国内.
  4. Recent Activities for safety assessment, Kojima H, International Symposium on Cosmetic Regulation, 2018/7/13, 国内.
  5. 教育講演：ガイドライン化を目指したin vitro試験系導入の具体的な留意点, 小島 肇, 第45回日本毒性学会学術年会, 2018/7/20, 国内.
  6. 皮膚・粘膜毒性、光毒性、代替試験法, 小島 肇, 第21回日本毒性学会基礎教育講習会, 2018/8/7, 国内.
  7. New Approach on Alternative to Animal Test Methods in JaCVAM and Japanese projects, , Kojima H, The 15th Annual meeting of Korean Society of Alternative to Animal Experiments, 2018/8/24, 国外.
  8. Introduction and research status of AAT in JaCVAM, Kojima H, The 2nd International Conference on Cosmetics Alternative Methods in NIFDC, 2018/9/20, 国外.
  9. New methods validation and AAT regulatory acceptance in Japan, Kojima H, The 2nd International Conference on Cosmetics Alternative Methods in NIFDC, 2018/9/21, 国外.
  10. Japanese Strategy on Alternative to Animal Test Methods for Systemic Toxicology, Kojima H, 20th International Congress on In Vitro Toxicology, 2018/10/16, 国外.
  11. h-CLAT における NLRP3 インフラマソームの影響, 丸山 諒, 洪水麻衣, 三田地隆史, 小島 肇, 板垣 宏, 日本動物実験

- 代替法学会第 31 回大会, 2018/11/24, 国内.
12. 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 試薬中 LPS の影響除外に関する検討(第 1 報), 小林(九十九)英恵, 生地加奈実, 山下邦彦, 小島 肇, 板垣 宏, 日本動物実験代替法学会第 31 回大会, 2018/11/24, 国内.
  13. 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 薬中 LPS の影響除外に関する検討(第 2 報), 生地加奈実, 小林英恵, 山下邦彦, 小島 肇, 板垣宏, 日本動物実験代替法学会第 31 回大会, 2018/11/24, 国内.
  14. Multi-Immuno Tox Assay (MITA) : バリデーション研究の結果, 木村 裕, 安野理恵, 渡辺美香, 小林美和子, 岩城知子, 藤村千鶴, 近江谷克裕, 山影康次, 中島芳浩, 小林眞弓, 大森 崇, 足利太可雄, 小島 肇, 相場節也, 日本動物実験代替法学会第 31 回大会, 2018/11/24, 国内.
  15. OECD AOPプロジェクト, 小島 肇, 第一回医薬品毒性機序研究会, 2019/1/10, 国内.
  16. 毒性評価系の国際標準化に向けた戦略, 小島 肇, 毒性評価研究会, 2019/1/31, 国内.
  17. ヒト健康影響を予測するための非動物実験の開発動向, 小島 肇, Translational and Regulatory Science Symposium, 2019/2/7, 国内.
  18. 国際情勢から見た幹細胞ベースの毒性試験について, 小島 肇, 幹細胞を用いた化学物質リスク情報共有化コンソーシアム scChemRISK, 2019/2/15, 国内.
  19. *In vivo* 実験に依存しない光化学的及び *in vitro* 皮膚曝露評価に基づく光安全性評価系の開発, 猪山陽輔, 佐藤秀行, 世戸孝樹, 尾上誠良: 日本動物実験代替法学会 第 31 回大会, 2018 /11 /23-25 日, 国内.
  20. Iyama Y, Sato H, Seto Y, Onoue S: A new *in vitro* photosafety screening system by combined use of photoreactivity and skin exposure of chemicals as an alternative to animal experiments. American Association of Pharmaceutical Scientists PharmSci 360, 2018/11/4-7, 国外.
  21. Reactive oxygen species assay 及び *in vitro* 皮膚透過性試験を用いた新規光安全性評価系の開発, 猪山陽輔, 佐藤秀行, 世戸孝樹, 尾上誠良, 第 4 回 日本医薬品安全性学会学術大会, 2018/8/18-19, 国内.
  22. 光反応性及び皮膚内動態に基づく光安全性評価における動物実験代替法の開発, 猪山陽輔, 佐藤秀行, 世戸孝樹, 尾上誠良, 日本薬剤学会 第 33 回年会, 2018/5/30-6/1, 国内.
  23. Weight of Evidence を用いた光感作性評価系構築～光感作データベース～, 畠山由梨, 大竹利幸, 西田勇人, 廣田衛彦, 尾上誠良, 戸倉新樹, 足利太可雄, 上月裕一, 日本動物実験代替法学会第 31 回大会, 2018/11/23, 国内.
  24. Weight of Evidence を用いた光感作性評価系構築～光 h-CLAT の改良～, 大竹利幸, 畠山由梨, 西田勇人, 廣田衛彦, 足利太可雄, 戸倉新樹, 上月裕一, 日本動物実験代替法学会第 31 回大会, 2018/11/23, 国内.
  25. 三次元培養皮膚モデル LbL-3D Skin を用いた皮膚刺激性試験法のバリデーショ

- ン研究, 赤木隆美, 村上将登, 田口浩之, 池田英史, 宮崎裕美, 加藤雅一, 山田知美, 足利太可雄, 明石満, 小島肇, 日本動物実験代替法学会第31回大会, 2108/11/23, 国内
26. 迅速簡便かつ効率的なエピジェネティック変異原検出技術, 杉山圭一, 古沢博子, 木下麻緒, 清水雅富, グルーズピーター, 本間正充, 第91回日本生化学会大会, 2018/9/24, 国内.
27. 1,3-Dichloro-2-propanolのF344ラットを用いた28日間反復強制経口投与による毒性プロファイルの検索, 松下幸平, 豊田武士, 森川朋美, 山田貴宣, 小川久美子, 第35回日本毒性病理学会学術集会, 2019/02/01, 国内.
28. 膀胱発がん物質投与初期における遺伝子発現解析及び新規膀胱発がんマーカーの探索, 豊田武士, 山田貴宣, 松下幸平, 森川朋美, 小川久美子, 第35回日本毒性病理学会学術集会, 2019/02/01, 国内.
29. 膀胱発がん物質投与による $\gamma$ -H2AX形成の用量相関性及び経時的変化, 山田貴宣, 豊田武士, 松下幸平, 森川朋美, 小川久美子, 第35回日本毒性病理学会学術集会, 2019/02/01, 国内.
30. RNAアプタマーを用いた新規骨再生用材料の*in vivo*性能評価, 野村祐介, 藤澤彩乃, 松下幸平, 豊田武士, 福井千恵, 森下裕貴, 小川久美子, CHUNG Ungil, 中村義一, 靱島由二, 第40回日本バイオマテリアル学会, 2018/11/12, 国内.
31. 膀胱発がん性芳香族アミン *o*-toluidineの代謝物分析とDNA付加体, 田島悠也, 豊田武士, 平山裕一郎, 橋詰力, 松下幸平, 小川久美子, 渡辺賢二, 戸塚ゆ加里, 若林敬二, 三好規之, 第47回日本環境変異原学会大会, 2018/11/01, 国内.
32. ラットを用いた2-エチルブタナールの90日間亜慢性反復経口投与毒性試験, 森川朋美, 松下幸平, 豊田武士, 山田貴宣, 高橋美和, 井上薫, 小川久美子, 第24回日本食品化学学会, 2018/05/17, 国内.
33. 膀胱がんリスク因子としてのノルハルマン代謝物: ラットを用いた検討, 豊田武士, 戸塚ゆ加里, 松下幸平, 森川朋美, 山田貴宣, 三好規之, 若林敬二, 小川久美子, 第25回がん予防学術大会, 2018/06/27, 国内.
34. Evaluation of QSAR models for daphnia and fish chronic toxicities of human pharmaceuticals. Yamada, T., Kurimoto, M., Shiraishi, H., Yamamoto, H., Tatarazako, N., Nishimura, T., Hirose, A. SETAC Europe 28<sup>th</sup> Annual Meeting, 2018/5, 国外.
35. Validation of the *in silico* prediction tool for toxicity of Algae by pharmaceuticals in environment. Hirose, A., Kurimoto, M., Shiraishi, H., Yamamoto, H., Tatarazako, N., Nishimura, Yamada, T., SETAC Europe 28<sup>th</sup> Annual Meeting 2018/5, 国外.
36. 毒性関連大規模データベースの利用とリードアクロスによる安全性評価, 山田隆志, 第45回日本毒性学会学術大会, 2018/7, 国内.
37. インシリコ手法によるヒト用医薬品の生態毒性評価手法の開発, 山田隆志, 第45回日本毒性学会学術大会, 2018/7, 国内.
38. Adverse Outcome Pathway(AOP)の構築～ヒストン脱アセチル化酵素阻害による精巣毒性に関するAOPを例に～, 田邊思帆里, 広瀬明彦, 山田隆志, 第45回日

- 本毒性学会学術大会, 2018/7, 国内.
39. サリチル酸ベンジルの遺伝毒性、反復投与毒性及び生殖発生毒性のスクリーニング, 五十嵐智女, 高部道仁, 高島宏昌, 鈴木洋, 牛田和夫, 松本真理子, 磯貴子, 川村智子, 井上薫, 小野敦, 山田隆志, 広瀬明彦, 第 45 回日本毒性学会学術大会, 2018/7, 国内.
40. アセナフチレンのヒト健康影響に係る安全性試験結果: 28 日間反復投与毒性試験及び遺伝毒性試験, 松本真理子, 田邊思帆里, 芹沢英樹, 高部道仁, 川村智子, 五十嵐智女, 磯貴子, 井上薫, 山田隆志, 広瀬明彦, 第 45 回日本毒性学会学術大会, 2018/7, 国内.
41. 構造活性相関によるヒト用医薬品の環境影響予測手法の開発, 栗本雅之, 山田隆志, 白石寛明, 山本裕史, 広瀬明彦, 第 45 回日本毒性学会学術大会, 2018/7, 国内.
42. Category assessment of repeated-dose hepatotoxicity of phenolic benzotriazoles for OECD IATA Case Studies Project in 2016. Yamada, T., Matsumoto, M., Kitajima, S. Aisaki, K., Kanno, J., Hirose, A., EUROTOX 2018, 2018/9, 国外.
43. Updates and overview of derivation of subacute guidance values for contaminants in drinking water in Japan, Matsumoto, M., Kawamura, T., Inoue, K., Yamada, T., Kobayashi, N. Hirose, A. EUROTOX 2018, 2018/9, 国外.
44. 非発がんエンドポイントの TTC アプローチを改良するための新しいデータベースの開発, 山田隆志, 栗本雅之, 広瀬明彦, Chihae Yang, James F Rathman, 日本動物事件代替法学会第 31 回大会, 2018/11, 国内.
45. 分子キーイベントのインビトロ試験データを用いた肝毒性予測モデルの開発, 城島光司, 山田隆志, 広瀬明彦, 日本動物事件代替法学会第 31 回大会, 2018/11, 国内.
46. インビトロ試験データを用いた分子レベルのイベントによる肝毒性予測, 城島光司, 山田隆志, 広瀬明彦, 第 46 回構造活性相関シンポジウム, 2018/12, 国内.
47. Establishing mechanistic key event information of repeated dose toxicity to support category-based read-across assessment. Yamada, T., Kurimoto, M., Miura, M., Kawamura, T., Jojima, K., Taira, N., Ohata, H., Tsujii, S., Ohno, A., Hirose, A, 58<sup>th</sup> Annual Meeting of Society of Toxicology, 2019/3, 国外.
48. AOP (Adverse Outcome Pathway; 有害性発現経路)に基づいた化学物質の安全性評価へ向けたチャレンジ, 山田隆志, 足利太可雄, 小島肇, 広瀬明彦, 日本薬学会第 139 年会, 2019/3, 国内.

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### H.1. 特許取得

なし

### H.2. 実用新案登録

なし

### H.3. その他

なし