

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 分担研究報告書

免疫毒性のAOP開発

研究分担者 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

研究要旨

日本免疫毒性学会 AOP 検討小委員会とともに、免疫毒性に関する AOP の開発を行った。昨年度 AOP wiki 登録を行った「Inhibition of Calcineurin Activity Leading to impaired T-Cell Dependent Antibody Response」については、OECD EAGMST より提出された内部レビューアーのマイナーコメントに対応し、内部レビューが終了した。本 AOP については今後外部レビューに進む予定である。

今年度はさらに、以下に示す新たな 3 種の AOP の開発を行い、SPSF (Standard Project Submission Form) を OECD に提出した。

1. Activation of TLR 7 leading to psoriatic skin disease
2. Activation of estrogen receptors in T cells leading to development of Th2
3. Inhibition of JAK3 leading to impairment of TDAR

これらの新たな AOP について、次年度 AOP wiki 登録を行うために、登録書類の原稿案を作成した。

A. 研究目的

免疫毒性は化学物質の安全性を評価するうえで重要な項目であり、その複雑さから IATA (Integrated Approaches to Testing and Assessment) による総合的な評価が必要と考えられている。IATA 確立のためには、免疫毒性に関する複数の AOP を開発し、ネットワーク化する必要がある。日本主導で AOP を開発することにより、世界中の人々の化学物質による免疫毒性被害の防止に貢献するだけでなく、日本の研究レベルの高さを世界にアピールすることを目的とする。

B. 研究方法

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に関する AOP の開発を委託した。

(倫理面への配慮)

本研究は動物実験を含め新たな実験は行わないため、倫理的問題は無いと考える。

C. 研究結果

AOP wiki への登録を行った「Inhibition of Calcineurin Activity Leading to impaired T-Cell Dependent Antibody Response」については、2018年6月に OECD パリ本部にて開催された EAGMST (Advisory Group on Molecular Screening and Toxicogenomics) 会議において、内部レビューの結果が報告された。本 AOP

は、FK506などの化学物質がカルシニューリンを阻害することによりIL-2およびIL-4の産生が抑制され、最終的に免疫応答としての抗体産生が阻害されるというものである。会議の結果、本AOPの完成度は高く、内部レビューにおいて特に大きな問題はないため、外部レビューに進むべきとの結論となった。ただし申請したAO (Adverse Outcome) であるTDAR (T cell Dependent Antibody Response)はいわゆるバイオマーカーであり、AOではないとの意見が出されたため、会議後にこの点についてAOP検討小委員会で対応を検討した。当初本AOPでは、AOとして易感染性を提案しており、それに戻すという考えもあったが、TDARは規制側が評価可能なエンドポイント(ICH-S8)であることから、このまま外部レビューに進行することとした。すでに内部レビューアーのマイナーコメントに対応済みであり、今後外部レビューを受ける予定である。

本研究では、さらに免疫毒性のAOPを開発することとし、最終的に以下の3つのAOP案を策定した。1つ目は、「Activation of TLR 7 leading to psoriatic skin disease」というタイトルであり、樹状細胞に存在するTLR (Toll-like receptor) 7の過剰な活性化が、Th17およびKeratinocyteの関与を経て乾癬様の皮膚疾患を生じさせるという内容である。2つ目は、「Activation of estrogen receptors in T cells leading to development of Th2」というタイトルで、T細胞に存在するER (Estrogen Receptor) の過剰な活性化がTh2タイプのサイトカインの産生を促進し、Th1/Th2バランスがTh2にシフトするという内容である。3つ目は、「Inhibition of JAK3 leading to impairment of TDAR」というタイトルで、細胞内シグナル伝達に関与するJAK3の阻害により、IL-2およびIL-4の産生

が抑制される結果、TDARが抑制されるという内容である。これらについてSPSF (Standard Project Submission Form) を作成し、2018年11月にOECDに提出した。その後に行われたEAGMSTの電話会議において、これらのAOP案が特に問題なく次のステップであるAOP wikiへの登録作業に進むこととなったため、原稿案を作成した。

D. 考察

AOPの開発は最終化まで2回のレビュー (内部及び外部) を経る必要があり、平均約1000日を要すると言われる膨大で緻密な作業である。また、これまで免疫毒性について成立したAOPはない。したがってこれまで作成したAOPをAOP wikiに登録するだけで終わりではなく、レビューアーのコメントに適切に対応しながら最終化していく必要がある。そのためには、OECDより発行されているUser's Handbook supplement to the Guidance Document for developing and assessing Adverse Outcome Pathwaysなど関連情報を把握することはもちろん、EAGMSTの会議において直接情報交換を行うことが重要である。例えば、今年度新たに提案したER (Estrogen Receptor)に関するAOPでは、当初AOを「アレルギー応答の増悪」としていたが、EAGMSTの電話会議において「アレルギーはすでにAOであり、AOを増悪させるAOというのはわかりにくい」との指摘があったため、AOを「Th1/Th2バランスのTh2へのシフト」に修正した。

またJAK3阻害に関するAOPは、昨年度申請したカルシニューリン阻害のAOPと同じ「TDARの抑制」とした。これは、将来免疫毒性のAOPをネットワーク化する際、先行するAOPと関連があるAOPは審査の優先順位が高くなると判断したためである。

E. 結論

昨年度登録したAOPは内部レビューが終了し、外部レビューに移行することとなった。今年度新たに3つのAOPの開発をOECDに提案し、承認された。このように免疫毒性に関する様々なAOPを開発することで、将来の免疫毒性に関するAOPネットワーク構築に寄与していく。

F. 研究発表

F.1. 論文発表

1. Van Viet E., Kuhn J, Goebel C, Martinozzi-Teisier S, Alpee 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
2. Hoffmann S, Kleinstreuer N, Alepee 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
3. Kleinstreuer N, Hoffmann S, Alepee 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
4. 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

F.2. 学会発表

1. 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、2108/11/23、国内
2. 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、2108/11/23、国内
3. 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
4. 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、山影健次、中島芳浩、小林真弓、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、2108/11/23、国内
5. 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、2019/3/23、国内

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし