

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

国内外で開発されOECDで公定化されるNAMを
活用した試験法の行政的な受け入れに対応する
ための研究 (24KD2002)

令和 6 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 平林容子

令和 7 (2025) 年 4 月

I. 総括研究報告

国内外で開発されOECDで公定化されるNAMを活用した試験法の行政的な受け入れに対応するための研究-----	1
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／平林 容子	

II. 分担研究報告

1. バリデーション基準の改定対応および皮膚感作性試験のTG開発 -----	30
国立医薬品食品衛生研究所 ゲノム安全科学部／足利 太可雄	
2. 肝臓並びに腸管オルガノイドを用いた <i>in vitro</i> toxicokinetics評価系の構築 -----	35
東京農業大学 応用生物科学部／美谷島 克宏	
3. 発がん性試験におけるAOP、IATA及びTGの開発、及び実験データ支援 ---	44
国立医薬品食品衛生研究所 病理部／豊田 武士	
4. <i>In vitro</i> 腎毒性評価のTG開発及び実験データ支援-----	50
国立医薬品食品衛生研究所 病理部／松下 幸平	
5. 化学物質曝露によって誘発される発達神経毒性に関する研究-----	55
国立医薬品食品衛生研究所 毒性部／齊藤 洋克	
6. 皮膚感作性 <i>in silico</i> 機械学習モデルのTG 開発-----	59
名古屋市立大学データサイエンス研究科／安部 賀央里	
7. Bhas42細胞形質転換試験法のTG開発-----	66
神奈川県衛生研究所 理化学部／大森 清美	
8. <i>In vitro</i> toxicokineticsのDRP開発-----	68
国立医薬品食品衛生研究所 薬理部／山崎 大樹	
9. OECD ESCAプロジェクト対応-----	74
国立医薬品食品衛生研究所 毒性部／西村 拓也	
10. OECD ESCA プロジェクト対応 -----	77
帝京平成大学 健康医療スポーツ学部／中江 大	
11. 免疫毒性のIATAおよび <i>in vitro</i> toxicokineticsのDRP開発-----	81
山陽小野田市立山口東京理科大学 工学部医薬工学科／小島 肇	

III. 研究成果の刊行に関する一覧表-----	88
--------------------------	----

IV. 倫理審査等報告書の写し-----	93
----------------------	----

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）
令和 6 年度総括研究報告書

国内外で開発され OECD で公定化される NAM を活用した試験法の行政的な
受け入れに対応するための研究

研究代表者 平林 容子
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長

研究要旨

昨今、動物実験を用いずに全身毒性を評価するため、動物実験代替法の枠に捉われない概念として、New Approach Methodology (NAM) の開発が盛んである。NAM とは「動物実験の利用を避けた化学物質の有害性及びリスク評価における情報を用いるための技術、方法、アプローチ、またはその組み合わせ」と米国環境保護局 (EPA) により定義されている。経済協力開発機構 (OECD) の試験法ガイドライン (TG) プログラム各国調整官作業班 (WNT) や2023年に新設されたAdvisory Group on Emerging Science in Chemicals Assessment (ESCA) では、NAMに用いる新興技術の公定化のためのバリデーションを加速するための基準や仕組みの改定を促している。

本研究班は、このような世界的な動向に呼応して NAM の開発を加速し、新興技術に基づく評価法を公定化させるとともに、他国が提案する OECD 大型プロジェクトに関与し、得られた成果を化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）や毒物及び劇物取締法（毒劇法）などの我が国の厚生労働行政に反映させることを目的とする。

2024 年度、皮膚感作性試験代替法 EpiSensA が追記された TG442D が承認され、それに付随する EpiSensA の性能標準、免疫毒性試験 IL-2 Luc LTT 法のバリデーション報告書、IL-2 Luc LTT 法バリデーションの第三者評価報告書及び Guidance Document on IATA for phototoxicity testing の 5 件が OECD において採択され、9 月までに OECD のホームページで公開された。

これらの得られた成果が、我が国の厚生労働行政に反映されることを期待している。

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
ゲノム安全科学部 室長

美谷島 克宏

東京農業大学 応用生物科学部
食品安全健康学科 教授

豊田 武士

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 部長

齊藤 洋克

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
毒性部 主任研究官

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 室長

大森 清美

神奈川県衛生研究所
理化学部 主任研究員

山崎 大樹

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
薬理部 室長

安部 賀央里

名古屋市立大学
データサイエンス学部 准教授

西村 拓也

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
毒性部 室長

中江 大

帝京平成大学 健康医療スポーツ学部
医療スポーツ学科動物医療コース
教授

小島 肇

山陽小野田市立山口東京理科大学
工学部医薬工学科 教授

A. 研究目的

昨今、動物実験を用いないで全身毒性を評価するため、動物実験代替法の枠に捉われない概念として、New Approach Methodology (NAM) の開発が盛んである。NAM とは「動物実験の利用を避けた化学物質の有害性及びリスク評価における情報を用いるための技術、方法、アプローチ、またはその組み合わせ」と米国環境保護局 (EPA) により定義されている。経済協力開発機構 (OECD) の試験法ガイドライン (TG) プログラム各国調整官作業班 (WNT) や2023年に新設されたAdvisory Group on Emerging Science in Chemicals Assessment (ESCA) では、NAMに用いる新興技術の公定化のためのバリデーションを加速するための基準や仕組みの改定を促している。

本研究班は、このような世界的な動向に呼応して NAM の開発を加速し、新興技術に基づく評価法を公定化させるとともに、他国が提案する OECD 大型プロジェクトに関与し、得られた成果を化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）や毒物及び劇物取締法（毒劇法）などの我が国の厚生労働行政に反映させることを目的とする。

B. 研究方法

B-1. TG、DRP 及び IATA 等の開発

B-1-1. 皮膚感作性試験代替法の開発

- 1) 皮膚感作性試験代替法 EpiSensA 研究分担者足利及び小島は、皮膚感作性試験代替法 EpiSensA (Epidermal Sensitization Assay) が TG442D に掲載され、関連する文書として EpiSensA の性能標準が採択されるよう尽力した。
- 2) 足利及び小島は、研究協力者の笠原（富士フィルム）らとともに、GL497 皮膚感作性デフィンド アプローチに日本で開発された試験法の追加を目指した。
- 3) 足利及び小島は、研究協力者の赤堀有実（CERI）及び小野敦（岡山大学）らとともに、皮膚感作性試験代替法 α -SENS を TG442D へ追加することを目指し、試験法開発者と共にバリデーション実行委員会のメンバーとして、バリデーション研究に参画した。
- 4) 足利及び小島は、研究協力者の立花滋博（食品薬品安全センター）らとともに、EpiSensA の新規表皮モデルを TG442D へ追加することを目指し、Epi2SensA のバリデーション実行委員会のメンバーとして、me-too バリデーション研究に参画した。
- 5) 分担研究者の安部と足利にて開発した、皮膚感作性の強度指標であるマウスの LLNA EC3 値の定量的な予測モデル（Ambe et al., Regul Toxicol Pharmacol 125, 105019 (2021)）を改良した。具体的には、皮膚感作性を対象として機械

学習による予測モデルの実用化や規制安全性評価への受け入れに向けて、適用領域の設定や外部検証を実施した。また、モデルの解釈性・説明性を目指し、モデル作成に用いた説明変数の重要度の指標である SHAP (SHapley Additive exPlanations) 値を算出し予測結果の判断根拠を示した。学習データには皮膚感作性の組み合わせ評価のためのガイドライン (DASS, OECD No.497, 2021) に掲載されている化学物質のデータを用いた。予測モデルは機械学習を用いて決定木系アルゴリズムである XGBoost による回帰モデルを構築し、GHS 区分を行った。また、さらなる予測モデルの性能向上や精緻化を目指し、他の予測モデルとの比較や、学習データの追加に向けデータ準備を実施した。

B-1-2. 免疫毒性試験代替法の開発

小島は研究協力者の相場とともに、免疫毒性試験代替法 IL-2 Luc LTT 法のバリデーション報告書及び第三者評価報告書の採択に尽力した。採択を受け、免疫毒性試験 IL-2 Luc LTT 法の TG 成立を目指した。一方、免疫毒性 IATA の作成を目指す一環として、協力研究者として日本免疫毒性学会（理事長：斎藤 嘉朗）に初案作成を依頼するとともに、未完であった IL-1 Luc 法のバリデーション報告書の完成を目指した。

B-1-3. 腎毒性試験代替法の開発

研究代表者の平林、研究分担者の松下及び小島は、ヒト腎細胞 3D-RPTEC(R)

(日機装) を用いた *in vitro* 腎毒性評価法を TG とするため、開発者と今後の計画を練った。

B-1-4. 初回通過効果試験代替法の開発

研究代表者の平林、研究分担者の山崎、足利及び小島は、研究協力者の石田誠一(崇城大学)とともに *in vitro* toxicokinetics に関する現状をまとめた Detailed Review Paper (DRP) 作成を提案した。

1) SPSF 作成

In vitro toxicokinetics に関する DRP 開発を進めるため、Standard Project Submission Form (SPSF) 「Detailed Review Paper for *in vitro* toxicokinetics」を作成し、厚生労働省を通じて OECD へ提出した。

2) 専門家のリクルート

上記 SPSF へのコメント対応ならびに SPSF が承認された場合、DRP 作成を進めるための国内外の専門家メンバーのリクルートを行った。国内の専門家に関しては、薬物動態を専門とするアカデミアの研究者を中心に声をかけた。海外の専門家については、国際 MPS 学会(6月シアトル)、EUROTOX 2024(9月コペンハーゲン)、日米合同薬物動態学会(9月ハワイ)、SELECT BIO ASIA(11月成田)にて PBK モデリングや薬物動態を専門とする研究者に声をかけ、DRP ドラフトメンバーに入ってもらおうよう口頭での説明ならびにメールでの依頼を行った。

3) SPSF の改訂

OECD 加盟国の専門官から SPSF に対するレビューが返ってきた後、上記の専門家とともに対面にて SPSF へのレビューに対する回答案の作成を行った。

4) 研究班内の支援

研究班内では、研究分担者の美谷島教授及び研究協力者の煙山准教授(東京農業大学)が、肝臓並びに腸管オルガノイドを用いて化学物質の毒性評価系の構築に向けた検討を実施している。特に腸管から肝臓にかけての *in vitro* toxicokinetics に関連する代謝修飾を踏まえた毒性発現を評価することを目的として実験系の構築に取り組んでいる。山崎が進めている腸-肝連結の初回通過効果モデルに関して OECD TG417 の Toxicokinetics の一部を代替する試験法の開発及び DRP への参考となるデータを取得するため、美谷島教授らとの連携を進めた。

B-1-5. Bhas 42 assay の開発

研究分担者の大森は、研究協力者の小川(国立衛研)とともに Bhas42 assay の TG を目指した。

OECD では、OECD 非遺伝毒性専門家会議(NGTxC) IATA の開発が 2016 年から行われている。NGTxC では作用機構(MoA)の議論に基づき IATA 構築の方針が国際合意され、2020 年は Expert working group としてレビュー論文を公表している。このグループの支持を得て、Bhas42 アッセイの SPSF を OECD に提出した。

B-1-6. 眼刺激性試験及び光毒性試験代替法の開発

小島は、日本主導で進めてきた TG437:眼腐食性及び強度刺激性物質を同定するためのウシ角膜を用いる 混濁度及び透過性試験法 (BCOP) 改定案を各国からのコメントをもとに修正した。また、TG467: 眼刺激性デファインドアプローチへの界面活性剤の評価に必要となった TG491: 眼刺激性試験代替法短時間曝露法 (STE) の改定に取り組んだ。

また、小島は協力研究者の尾上 (静岡県立大学) の開発した光毒性に関する試験と評価のための戦略的統合方式 (IATA) の成立に尽力した。

B-1-7. GD34 の改定

研究分担者の足利は、バリデーション基準の改定対応については、2024 年 4 月 22-23 日と 12 月 9-10 日に行われた GD34 改定プロジェクト会議に参加し、readiness criteria と呼ばれる事前評価書のあり方を中心に議論を行った。またメールでのコメント募集にも対応した。

B-2. AOP、TG 及び IATA の実験データ支援

B-2-1. 肝臓並びに腸管オルガノイドを用いて化学物質の毒性評価系の構築に向けた検討

研究分担者の美谷島は、研究協力者の煙山紀子とともに、腸肝循環を目指す動物による人体模倣システム (MPS) 構築のため、肝臓における検討として、2024 年度は、マウス肝オルガノイド培養の基礎データ取得に加え、生体マウス

での化学物質曝露時の CYP 誘導や毒性評価を行った。

マウス肝臓由来オルガノイドは、5-10 週齢の雄性 C57BL/6J マウスより肝臓を単離し、コラゲナーゼ処理、セルストレーナーによる調製後、マトリゲル上にて三次元培養を行った。オルガノイド組織は得られたものの、増殖方法の安定化が求められた。得られたオルガノイドに対して、組織学的解析では、iPGell®を用いてオルガノイドをゼリー状に固め、パラフィン包埋ブロックを作製後、各種染色・観察を行った。遺伝子発現解析では、RNA 抽出、逆転写後、各種プライマーを用いた real-time PCR を実施し、同系統マウス肝組織における遺伝子発現と比較検討を行った。また、肝線維化評価に対するオルガノイドの利用に関して検討した。オルガノイドに対し、TGFβ1 を用いて 6 及び 30 ng/mL で 24 時間の刺激を行い、肝線維化反応に対する各種解析を実施した。

8 週齢の雄性 C57BL/6J マウスを用いて、*in vivo* と比較するための基礎的データ取得を目的とした薬剤投与試験を実施した。腸管と肝臓で共通した CYP アイソフォーム (CYP3A4 及び CYP2C9) の基質となるデキサメタゾン及びジクロフェナクを被験物質として選定し、それぞれメチルセルロース懸濁液を作製し、デキサメタゾン (500 mg/kg)、ジクロフェナク (45 mg/kg) の用量で 5 日間反復経口投与後に解剖した。

小腸に関する検討として、以下の 3 項目を実施した。1) マウス小腸オルガノイド培養系による検討、2) MPS デバイ

スへの搭載に向けた検討、3) マウスを用いた代謝酵素基質の投与による基礎的データを確認した。

2024 年度はマウスの腸管上皮オルガノイド (STEMCELL 社) を購入し、IntestiCult™ M Organoid Growth Medium (Mouse) を用いて STEMCELL 社より提示された定法に従いマトリゲルドームを形成し、オルガノイド培養に着手した。引き続き、MPS デバイスに搭載し被験物質を曝露するための必須条件であるマトリゲルドーム培養下の腸管オルガノイドからの平面培養化の検討にも取り組んでいる。

肝臓の取り組みと同様に、被験物質はニフェジピン及びジクロフェナクを用いた。なお、ニフェジピン及びジクロフェナクの曝露条件を検討するため、腸管上皮由来の株化細胞である Caco-2 細胞の培養において被験物質の細胞毒性を検討した。

B-2-2. 腎発がん物質早期検出法の開発

研究分担者の豊田は、 γ -H2AX 免疫染色による腎発がん物質早期検出法の開発に取り組んでいる。2024 年度は、 γ -H2AX 免疫染色による腎発がん物質早期検出法の特異度を検証するため、腎臓を標的としない発がん物質 7 種：5-Nitro-*o*-toluidine (PNOT)、3,3'-Dichlorobenzidine 二塩酸塩 (DCB)、4-Aminoazobenzene 塩酸塩 (AAB)、4,4'-Methylenedianiline (MDA)、4,4'-Methylenebis(2-chloroaniline)

(MOCA)、Chlorobenzene (CB) 及び Furan、ならびに非発がん物質 5 種：Anthranilic acid (*o*-AA)、Ethionamide

(ETP)、2,6-Diaminotoluene (2,6-DAT)、6-Mercaptopurine 一水和物 (6-MP) 及び 5-Fluorouracil (5-FU) を 28 日間反復経口投与した雄ラット (開始時 6 週齢、F344 または SD 系) の腎臓を用いた解析を実施した。各被験物質の投与濃度には、報告されている短期試験における最大耐量を用いた。

腎臓の病理組織標本を用いた γ -H2AX 免疫染色を実施し、 γ -H2AX 陽性細胞の定量解析を行った。右腎横断面において皮質 (COR) 及び髄質外層外帯

(OSOM) の特定部位を顕微鏡下

($\times 400$) でそれぞれ 4 か所撮影し、尿細管上皮細胞の総数ならびに γ -H2AX 陽性細胞をカウントすることで陽性細胞率を測定した。

また、 γ -H2AX と併用可能な新規バイオマーカー探索のため、ラット腎凍結材料を用いた RNA シークエンス (RNA-Seq) 解析を実施した。対照群、腎発がん物質 3 種：Chlorothalonil (CTN)、Phenolphthalein (Phph) 及び Tris(2-chloroethyl) phosphate (TCEP)、ならびに腎傷害性非発がん物質である Carboxin (CBX) を 28 日間経口投与したラットの腎凍結サンプル (各群 $n=3$ または 4) から Total RNA を抽出し、DNBSEQ による RNA-Seq 解析を行った。

B-2-3. 腎障害・腎線維化の AOP 作製に資するデータ

研究分担者の松下は、腎障害・腎線維化の AOP 作製に資するデータを得るため、6 週齢の雄性 SD ラットを 3 群に配し ($n=5$)、媒体である生理食塩水もしくはコリスチンを 15 及び 30 mg/kg 体重 (5 mL/kg 体重) の用量で 1 日 1 回、28 日間反

復皮下投与した。体重測定を週に 1 回行い、最新体重に基づいて投与容量を算出した。最終投与 1 日後にイソフルラン深麻酔下において腹大動脈から採血した後、放血により安楽死させて剖検を行った。剖検時に腎臓を摘出して重量を測定した後、一部を 10%中性緩衝ホルマリンにて固定し、残りの組織は液体窒素にて瞬間凍結もしくは OCT コンパウンドにて凍結ブロックを作製した後、-80°Cにて保存した。得られた血液サンプルを常温下で遠心 (3000 rpm、15 分) して血清を分離し、尿素窒素 (BUN) 及びクレアチニン (sCre) の値を測定した。また、10%中性緩衝ホルマリンで固定した腎臓組織を用いて定法に従いパラフィン包埋、薄切し、HE 染色を施して病理組織学的検索を行った。さらに免疫組織学的解析のため、組織標本を抗原賦活化処置としてクエン酸バッファ (pH6.0) に浸漬してオートクレーブ処置し (121°C、15 分)、3% H₂O₂/メタノールにて内因性ペルオキシダーゼを除去した。引き続き、非特異反応を除去するため 10%正常ヤギ血清を用いてブロッキング処置を施した後、抗 kidney injury molecule-1 (Kim-1) 抗体、c-caspase 3 抗体及び抗 CD68 抗体を 4°Cにて一晩インキュベートし、二次抗体 (ポリマー法：ヒストファインシンプルステイン) を室温下で 30 分インキュベートした。ジアミノベンジジンにて反応を可視化し、ヘマトキシリンにより核染色を行った。単位面積当たりの Kim-1 及び c-caspase 陽性細胞数並びに CD68 陽性面積について画像解析ソフト (HALO) を用いて算出した。また Kim-1 陽性尿細管及び CD68 陽性

マクロファージの局在を検討するため、Kim-1 及び CD68 の二重蛍光免疫染色を行った。さらに interleukin-34 (IL-34) mRNA の局在を *in situ* hybridization 法 (RNAscope™) により解析した。

対照群及び 30 mg/kg 群の凍結ブロックを薄切 (約 15 µm) し、on ice で迅速 HE 染色を施した。対照群の正常尿細管及び 30 mg/kg の空胞化/再生尿細管をレーザーマイクロダイセクションにより採取し、マイクロアレイにより遺伝子発現を網羅的に解析した。正常尿細管と比較して空胞化/再生尿細管において発現の変動していた遺伝子群を抽出し、Ingenuity® Pathway Analysis によるパスウェイ解析を行った。また、瞬間凍結組織から tRNA を抽出し、合成した cDNA を用いて定量 PCR 法により Kim-1 及び IL-34 の遺伝子発現を検索した。

統計学的解析として、体重、腎重量、血清生化学的検査、画像解析及び遺伝子発現解析のデータについて一元配置分散分析 (ANOVA) を実施した後に Dunnett 法による多重検定を行った。有意水準は 0.05 に設定した。

B-2-4. 化学物質曝露によって誘発される発達神経毒性に関する研究

研究分担者の斎藤は、化学物質曝露によって誘発される発達神経毒性に関する研究として、発生-発達期のマウスに作用機序の異なる被験物質を投与し、脳高次機能への影響として生じる共通のイベント、あるいはその影響の差異を検討した。

2024 年度は、免疫組織化学により、各神経細胞への影響 (変化) を検出するた

めの条件確認を行った。10%中性緩衝ホルマリンにて固定した成熟マウス（13週齢）の脳組織について、パラフィン切片（10 μ m）を作製し、各細胞の分化マーカーを用いた免疫組織化学を行った。パラフィン切片はキシレンで脱パラフィンし、エタノールにて段階的に再水和した。HistoVT One により 90°C、30 分で抗原賦活化処理し、Blocking One と共に 4°C で 1 時間ブロッキング処理した後、一次抗体処理を行い、4°C で一晩インキュベートした。一次抗体には以下のものを用いた：rabbit polyclonal anti-doublecortin (DCX; Abcam)、rabbit monoclonal anti-neuronal nuclei (NeuN; Abcam)、goat polyclonal anti-SRY-related HMG-box 2 (SOX2; Santa Cruz Biotechnology)、rabbit monoclonal anti-glial fibrillary acidic protein (GFAP; Abcam)、mouse monoclonal anti-myelin associated glycoprotein (MAG; Abcam)、rabbit monoclonal anti-NeuroD1 (Abcam)（いずれも 300 倍希釈）。PBS で洗浄後、二次抗体として Alexa Fluor 488 及び 594 標識抗体（Invitrogen; 1,000 倍希釈）を用い、4°C で 2 時間処理した。核は Hoechst 33342（5,000 倍希釈）で染色した。一次抗体及び二次抗体、Hoechst 33342 は、Blocking One 及び PBS の混合溶液で希釈して用いた。

また、ネオニコチノイド系農薬であるイミダクロプリド（IMI）を被験物質として選択し、幼若期（2 週齢）及び成熟期（10 週齢）の C57BL/6N 雄性マウスに 8mg/kg の用量で単回強制経口投与する実験を行った。対照群には用いた溶媒としてコーンオイルを投与した。被験物質の投与後、12～14 週齢時に個体の行

動に及ぼす影響を検出するため、自発運動量、情動行動、学習記憶、情報処理機能に着目し、オープンフィールド試験、明暗往来試験、条件付け学習記憶試験、プレパルス驚愕反応抑制試験を組み合わせた行動試験を行った。行動試験終了後、解析に用いたマウスから脳組織を採取し、今後の実験のためのサンプルとした。得られた実験データに対しては、Dunnett の多重比較検定を用いて統計解析を行った。有意水準は 5%（ $p < 0.05$ ）に設定した。

B-3. OECD に提出する資料の事前確認と OECD からの意見募集への対応

B-3-1. WNT 対応

研究代表者の平林は小島とともに、OECD WNT の成果物を厚生労働行政に反映させるため、研究分担及び研究協力研究者とともに、日本から OECD に提出する資料を事前に確認するとともに、諸々の提案資料に対する OECD からの意見募集に適切な意見を返した。特に、OECD の TG 開発のために必要な SPSF を事前に審査し、WNT 会議で円滑な承認を受けるべく尽力した。

なお、平林は WNT 会議（2025 年 4 月 1－4 日）に現地で参加し、東野（厚生労働省）、小島、及び研究協力者の森（日化協）等は web で参加した。

B-3-2. ESCA 対応

ESCA は、NAM の開発、AOP と IATA の構築を進める諸国・地域・関連団体に対し、適切な助言・助力を与え、以て化学物質の国際的なリスク評価の現代化・最新化に貢献できる組織である。

研究代表者の平林、研究分担者の中江及び西村は、本研究班における国際情報調査を担当した。調査の方法としては、OECD ESCA の Advisory Group 会議

(2024 年 6 月 25-27 日開催) 及び新規プロジェクト提案に関する web 会議

(2024 年 10 月 28 日、2024 年 1 月 16 日)、ESCA/WNT 合同会議及び ESCA 会議 (2025 年 3 月 31 日から 4 月 1 日にパリ開催) にもリモート出席等に出席し、新興技術を用いた評価法 (NAM) に関して公定化をすすめる仕組みや他国が提案するプロジェクトについての情報収集を行った。

なお、ESCA/WNT 合同会議及び ESCA 会議の報告は、年度を跨ぐので、次年度に報告する。

B-3-3. その他学会

中江は、2024 年 8 月 20 日から 22 日に米子で開催された第 37 回発癌病理研究会と、2024 年 9 月 19 日から 21 日に福岡で開催された第 83 回日本癌学会学術総会に出席し、国内における新しい評価手法 (New Approach Methodologies、NAMs) の状況について情報を収集した。

(倫理面への配慮)

動物の数は最小限にとどめ、実験は国立医薬品食品衛生研究所及び東京農業大学の実験動物取扱い規定に基づき、動物の苦痛を最小限とするよう配慮して行った。

C. 研究結果

C-1. TG、DRP 及び VATA 等の開発

C-1-1. 皮膚感作性試験代替法の開発

1) 2024 年の WNT 会議にて、EpiSensA を

含む TG442D が成立し、6 月に公開された。付随する EpiSensA の性能標準が採択され、9 月までに OECD のホームページで公開された。

- 2) GL497 (DASS) 改定案に向け、日本で開発された方法を追加すべく、2024 年 6 月に TG 化された EpiSensA も含め検討することを OECD 皮膚感作性専門家グループに提案し、最終的には WNT の確認も経て承認された。そこで 7 月以降に ADRA, EpiSensA 及び IL-8 Luc assay それぞれのボーダーラインレンジを算出し、それらの値に基づいて既存の試験法と置換した場合の *in vivo* との対応性も算出し、既存の試験法と同等の予測性を有していることを示した。
- 3) α -Sens のバリデーション研究については実験が終了した進捗状況を OECD に伝え、OECD のプロジェクトとして問題なく進んでいることの理解を得た。
- 4) Epi2SensA のバリデーション研究については、被験物質 5 品で Phase I としてトレーニングを実施し、偽陽性 (Salicylic acid)、偽陰性物質 (Eugenol) はあったが、全参加施設で同じ評価であったことから技術移転性は問題なしと判断された。続いて施設間再現性を確認するためにコード化した被験物質により繰り返し試験を実施した。ただし、費用と期限の観点から、参加施設の一般財団法人食品薬品安全センターと協議し、Phase II までの参加となった。
- 5) モデル構築及び内部検証用データとして皮膚感作性の組み合わせ評価の

ためのガイドライン（DASS, OECD No.497, 2021）に記載されているリストから154物質、外部検証用データとして化粧品業界団体により公開された文献（Hoffmann, 2022）から72物質のLLNA試験結果情報を使用した。LLNA EC3値を目的変数とし、決定木系アルゴリズムであるXGBoostによる回帰モデルを構築した。説明変数には、皮膚感作性の発症メカニズムに対応する3種類の*in vitro*試験結果（DPRA、KeratinoSensTM、h-CLAT）、OECD QSAR ToolBoxやOPERAから算出した分子記述子、構造アラート情報から21個の変数を使用した。モデルの適用領域は、説明変数情報から、①3種類の*in vitro*試験結果のうち2種類以上が陽性、②近傍法によるデータ間の距離をもとに設定した。また、各説明変数のSHAP値を算出し、モデルに対する重要度、及び寄与の方向を可視化した。内部検証及び外部検証データについて、適用領域内の物質を用いてモデルによる予測値が実測値の1/5倍から5倍の範囲内にある物質の割合を算出したところ、内部検証データでは80%であり、外部検証データでは65%であった。また、算出された各説明変数のSHAP値をもとに、予測モデルへの重要度を順位付けしたところ、使用した3種類全て（DPRA、KeratinoSensTM、h-CLAT）の*in vitro*試験結果が上位を占めた。さらに、*in vitro*試験において毒性が強いほど、皮膚感作性強度が強く予測され、正の相関が確認された。

SHAPを用いることで、各物質の予測に寄与する変数が可視化できることや、その変数が正に寄与したか、負に寄与したかが確認できるため、モデルの予測結果を評価する際に有益な情報が提供できる。

また、モデルの予測性能を比較するために、外部検証用データに対して、安部らが2021年に構築したCatBoostモデル（Ambe et al., Regul Toxicol Pharmacol 125, 105019 (2021)）や、資生堂のANNモデル（Hirota, et al., J. Appl. Toxicol., 35, 1333-1347 (2015)）を用いて予測を行った。予測値が実測値の1/5倍から5倍の範囲内にある物質の割合を算出したところ、本DASSモデルで36.1%、CatBoostモデルで44.4%、ANNモデルで33.3%となった。3つのモデル間で性能に大きな差はなかったことから、DASSモデルは既存の皮膚感作性強度指標を定量的に予測する機械学習モデルと比較し、予測性能が同等であることが示された。

次に、本DASS回帰モデル（XGBoostRegressor）にて算出されたLLNA EC3予測値を用いて、LLNA EC3予測値が2%以下であればGHS 1A、LLNA EC3予測値が2%より大きければGHS 1Bと判定した。内部検証のうち81物質についてGHS区分の一致を確認したところ、一致率79.0%、過大評価13.6%、過小評価7.4%であった。また、陰性については予測に使用した3種類の*in vitro*試験が3つとも陰性または2つ陰性の場合は陰性と判定した。これら陰性物質もあわせた計139物質の一致

を確認したところ、一致率67.6%、過大評価7.9% 過小評価24.5%であった。

学習データの追加に関しては、外部検証に使用したデータや、文献情報から追加可能のデータの精査を実施中である。

C-1-2. 免疫毒性試験代替法の開発

免疫毒性試験代替法IL-2 Luc LTT法のバリデーション報告書及び第三者評価報告書が2024年4月のWNT会議で採択され、2024年9月に公開された。引き続き、5月に免疫毒性試験IL-2 Luc LTT法のTG案をOECDに提出して各国の専門家と議論した。

また、一昨年、OECDに免疫毒性IATA作成の提案（SPSFを提出）したが、2024年4月にWNTにて却下された。まずはIATA事例報告を作成するよう指示された。そこで、免疫毒性学会に協力を求め、AOP153を基にしたIATA事例の素案を作成することができた。さらに、IL-2 Luc法と組み合わせる対象として、開発者及び国際的な専門家とともに、未完であったIL-1 Luc法のバリデーション報告書の見直しに着手した。

C-1.3. 腎毒性試験代替法の開発

ヒト腎細胞3D-RPTEC(R)をOECDに提案するにあたり、関係者で議論した結果、DRP開発のSPSFを来年度にOECDに提出することで合意を得た。

C-1.4. 初回通過効果試験代替法の開発

1) SPSF 作成

OECD TG417 Toxicokinetics は、2010年7月に承認されたものであり、基本的にラットを用いて毒性試験の結果の解釈を支援するためのものと理解されている。ラット体内における化学物質の吸収・代謝・分布・排泄を血中や組織内動態から求めることが試験内容として記載されている。科学技術の革新により、これをMPS等の*in vitro*評価法と*in silico*評価法で構成することを目指したものにすべく、SPSF「Detailed Review Paper for *in vitro* toxicokinetics」を作成し、厚生労働省を通じてOECDへ提出した。

2) 専門家のリクルート

国内専門家として、北里大学 前田和哉教授、金沢大学 白坂善之准教授、金沢大学 増尾友佑准教授を分担研究者の小島が招聘し、12月11日（水）に開催された「厚生労働科学研究平林班 第3回MPS 検討会」にて下記に関して詳細な説明を行った。

- SPSF「Detailed Review Paper for *in vitro* toxicokinetics」の内容
- 欧州及び米国から提出された SPSF「Development of Test Guidelines for Measuring Human Hepatic Clearance and Plasma Protein Binding Using *In Vitro* Methods and Integration in a Defined Approach for Toxicokinetic Characteristics」に対する山崎及び研究協力者の石田教授のコメント
- 2025年1月10日の「第二回MPS実用化推進協議会学術シンポジウム」及び1月11日開催の「*In vitro* toxicokinetics meeting」の内容とメンバー構成

欧州及び米国からの SPSF 及び 1 月 11 日開催の「*in vitro* toxicokinetics meeting」に対して専門家としての意見を提案できるよう依頼し、平林代表研究者、足利及び小島分担研究者、前田教授、増尾准教授及び白坂准教授から承諾を得た。

海外の専門家としては、国際 MPS 学会にて Dr. Monica Piergiovanni (Joint Research Center)、EUROTOX 2024 にて Dr. Nynke I. Kramer (Wageningen University & Research)、国際薬物動態学会にて Dr. Bhagwat Prasad (Washington State University)、SELECTBIO ASIA にて Dr. Mandy B. Esch (NIST (National Institute of Standards & Technology)) に DRP drafting member の依頼を行った。最終的に、Dr. Bhagwat Prasad 及び Dr. Mandy B. Esch に「第二回 MPS 実用化推進協議会学術シンポジウム」及び「*In vitro* toxicokinetics meeting」参加の承諾をいただいた。また、別途 Dr. Nicole Kleinstreuer (National Interagency Center for the Evaluation of Alternative Toxicological Methods (NICEATM) / Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods (ICCVAM)) にも会議への参加を依頼し、「第二回 MPS 実用化推進協議会学術シンポジウム」及び「*In vitro* toxicokinetics meeting」に分担研究者の小島が招聘した。

上記のメンバーに加えて東京大学 楠原洋之教授、東京農業大学 美谷島克宏教授に対して追加で DPR 開発の協力を依頼した。SPSF が承認された場合に、

上記メンバーで DPR 開発を進めることとした。

3) SPSF の改訂

OECD 加盟国の専門官から SPSF に対するレビューが返ってきた後、1 月 11 日開催の「*In vitro* toxicokinetics meeting」にて上記の専門家とともに対面にて SPSF へのレビューに対する回答案について議論を行った。SPSF 原案の内容が toxicokinetics 全体を網羅しており多岐に渡るため、複雑でわかりにくいとの意見が多かったためタイトルを「Detailed Review Paper for Gut-Liver MPS Toxicokinetics」に変更し、腸－肝連結 MPS での評価に絞った内容に改訂した。また、米国及び EU から提出された SPSF 「Development of Test Guidelines for Measuring Human Hepatic Clearance and Plasma Protein Binding Using *In Vitro* Methods and Integration in a Defined Approach for Toxicokinetic Characteristics」や、WPHA (OECD ハザード評価作業部会) で化学物質の体内分布に関する PBK モデリングについての GD331 の改訂が行われていることを考慮して、フローチャートを用いて、各提案の違いと将来的な展望についての説明を追加した。2025 年 2 月末の各国のナショナルコーディネーター会議にて、OECD 事務局から米国及び EU 提案の SPSF との違いや MPS に関連して ISO で議論されている内容との差異を追加で説明するよう依頼があったため、追加資料の作成を行った。その結果、年度をまたぐが、2025 年 4 月初旬の WNT 会議にて、本提案は強い反対意見が出ることなく承認された。

4) 研究班内の支援

美谷島教授らへ MPS に関する国内国際動向を説明し、その中で腸－肝連結の初回通過効果モデルに関して OECD TG417 の Toxicokinetics の一部を代替する試験法の開発の意義を説明した。美谷島教授らが得意とするマウスの小腸及び肝臓を用いた試験法の構築を進めることにより、*in vivo* 及び *in vitro* での化学物質データの比較が可能と考え、提案を行った。また、2025 年度からは定期的（1 ヶ月に 1 回程度）な打合せを行うこととなった。

C-1.5. Bhas42 アッセイ

OECD NGTxCは2024年9月に対面会議を行うことになり、それに先立ちWebでの全体会議及びCell transformation assay (CTA) Block (Block 3) のWeb会議が3回開催された。対面会議において、2024年のOECD WNT会議に日本から提出された Bhas 42 cell transformation assay (Bhas 42 CTA)のTGプロジェクトのSPSFについて、概要と背景についての報告の要請を受けて実施した。2016年のWNT会議において Bhas 42 CTAがGuidance documentに位置付けられた経緯を背景とし、近年追加されたメカニズム論文、NGTxCでの形質転換試験結果と網羅的解析によるメカニズムデータ、発がん性予測率の向上及びBhas 42 CTAが組込まれた労働安全衛生法の発がん性評価等について報告を行った。また、ECVAMからは本SPSFへのNGTxCとしての声明発出の可否及びトランスクリプトミクスデータの位置づけについて議題が出され、協議の結果、NGTxCによる

Bhas 42 CTAのTGプロジェクトへの支援が合意された。Bhas 42 CTA のTGプロジェクトのSPSF原案は、NGTxCからの助言を受けて、10月に厚生労働省からOECDに提出された。各国及び関係機関による査読の結果、多くの国及び機関から本SPSFへの賛同が得られた。

結果として、本SPSFは2025年4月のWNT会議にて、TG作成前にSystematic literature Reviewを実施し、Bhas 42CTAの作用機構を明確にした上で承認の可否を判断することとされた。

C-1.6. 眼刺激性試験代替法及び光毒性試験代替法の開発

日本としては、BCOPへの病理学的な評価を導入し、弱い眼刺激性を評価できるTG437の改定を目指してきたが、日米の共同研究結果に対して、各国の同意は得られなかった。改定TGの中には、病理学的な評価も利用できるかもしれないとの記載に留まった。

TG467の改定に必要な界面活性剤の評価 (DASF) に利用するTG491の改定を提案した。TG467 DASFにはSTE0.5 (変法) の利用が記載されているが、この方法はTG491に明記されていない。小島と開発者で協議の結果、TG491にSTE0.5を記載した初案作成に取り組み、改定TG491にて界面活性剤が評価可能とした上で、TG467 DASFを承認するようWNTに意見を求めた。

光毒性に関しては、Guidance Document on IATA for phototoxicity testingが2024年4月のWNTで採択され、9月にOECDのHPで公開された。

C-1-7. GD34改定

バリデーション基準の改定対応については、2回のプロジェクト会議において以下のような議論が行われた。すなわち、これまでよりも柔軟で効率化されたプロセスが必要、*pre-validation* から事前評価 (*readiness criteria*) へ移行すべき (このことにより事前評価の成績によってバリデーションを簡素化または省略可能となる)、開発企業自身によるバリデーションの可能性、DA 先行タイプの GL 開発の可能性 (個別の代替法をバリデーションした後に DA により統合するのではなく、まず DA を開発してから個別の試験法を当てはめる)。特に *readiness criteria* については、*in vitro* 試験法だけでなく DA に関する定型フォーマット案も作成され、検討が続いている。こうした検討は、*readiness criteria* を設定することで、バリデーションを実施する前に、開発者に技術移転性などガイドライン化に必要な情報を取得させ、その結果バリデーションの効率化とガイドラインの厳格性を両立させることが可能との考えに基づいているが、有効性については賛否が分かれている状況である。また、従来のバリデーションでは、*in vitro* 試験結果をもとに、あらかじめ設定したカットオフ値により、陰性/陽性を判別し、施設間及び施設内再現性を評価してきたが、今後の全身毒性試験では、各施設で得られた *in vitro* 試験の用量反応性結果から再現性を評価する統計学的アプローチが必要とされることから、新たな解析手法に関する議論が行われている。

C-2. AOP、TG及びVIATAの実験データ支援

C-2-1. 肝臓並びに腸管オルガノイドを用いて化学物質の毒性評価系の構築に向けた検討

得られたマウス肝オルガノイドは、管腔を形成し、Cytokeratin19 及び SOX9、CD44 が陽性を示した。マウス正常肝組織では、Cytokeratin19 及び SOX9 は胆管上皮細胞に染色され、CD44 は陽性細胞がほとんど見られなかった。遺伝子発現解析において、アルブミン及び CYP3A11 は、マウス正常肝組織と比較してオルガノイドで非常に低値を示した。一方で、肝芽細胞マーカーである α -fetoprotein は肝組織とオルガノイドで同程度の発現を示した。

オルガノイドへの TGF β 1 刺激では、TGF β 1 の刺激によって、細胞質の微細な空胞及び、核の変性壊死像が管腔内に認められた。SOX9, CD44, collagen type 1, fibronectin の遺伝子発現は、Control と比較して有意に増加した。一方で、肝細胞及び肝芽細胞マーカーであるアルブミン及び α -fetoprotein は、Control と比較して著明に減少した。

生体マウスを用いた薬剤経口投与における CYP 発現変動は、ヒトとの相同遺伝子として報告されている CYP サブタイプを中心に遺伝子発現変化を観察した。デキサメタゾン投与では、血清中 ALT 活性の増加、肝組織の空胞変性、肝臓における CYP3A11, CYP2A5, 及び CYP2C29 の遺伝子発現増加を認めた。ジクロフェナク投与では、血清中 ALT 活性の増加傾向、

肝組織の巣状壊死、CYP2C29 の遺伝子発現増加傾向を認めた。

マウス腸管オルガノイドは、STEMCELL 社より提示されたマトリゲルドーム培養法により腸管由来組織は順調に増殖した。さらに、同法により培養された腸管オルガノイドを一定数集積し、平面培養化の検討を試みた。さらに、オルガノイド培養における細胞毒性を評価するための条件検討として Caco-2 細胞培養によるニフェジピン及びジクロフェナクの細胞毒性を検討した。その結果、両化合物ともに顕著な細胞毒性は示さなかった。この結果を受け、今後はマウス腸管オルガノイド由来の平面培養への被験物質の曝露を進めていく。

生体マウスを用いた薬剤経口投与における CYP 発現変動は、肝臓における検討と同実験として実施した。ヒトとの相同遺伝子として CYP サブファミリーを中心に遺伝子発現変化を観察した。デキサメタゾン投与では、小腸における遺伝子発現において、CYP3A11 の増加並びに CYP2D9 の増加傾向を示し、さらに、CYP3A4 の免疫組織化学染色において、マウス小腸上皮細胞の陽性像の増強を認めた。ジクロフェナク投与によるマウス小腸の遺伝子発現解析では、CYP2D9 及び CYP3A11 の増加ないし増加傾向、CYP2C29 の減少傾向を認めた。

C-2-2. 腎発がん物質早期検出法の開発

腎尿細管上皮細胞における γ -H2AX 形成について、免疫組織化学的解析を行った結果、腎臓を標的としない発がん物質 7 種及び非発がん物質 5 種はいずれも、

γ -H2AX 陽性率の増加を引き起こさないことが明らかとなった。

現在、腎凍結サンプルを用いた RNA-Seq 解析について、 γ -H2AX と併用可能な新規バイオマーカーの探索を目指したデータ解析を実施中である。

C-2-3. 腎障害・腎線維化の AOP 作製に資するデータ

体重測定では、15 mg/kg 群において 1、3 及び 4 週に、30 mg/kg 群においては 1 から 4 週にかけて有意な体重の低値が認められた。腎臓の重量測定では、15 mg/kg 群では絶対重量の有意な低値が認められ、30 mg/kg 群においては絶対重量の有意な低値及び相対重量の有意な高値がみられた。血清生化学的検査では、15 及び 30 mg/kg 群において BUN 及び sCr が有意な高値を示した。病理解析では 15 及び 30 mg/kg 群ともに近位尿細管上皮の空胞化及び単細胞壊死がみられた。空胞化した尿細管の一部は核密度が高く、再生尿細管のマーカーである Kim-1 に陽性を示した。また単細胞壊死の一部はアポトーシスマーカーである c-caspase 3 に陽性を示した。マイクロアレイにおいて、正常尿細管と比較して空胞化/再生尿細管では 461 及び 497 個の遺伝子の発現がそれぞれ上昇及び減少していた。パスウェイ解析では空胞化/再生尿細管では IL-34 等の炎症性サイトカインを含むマクロファージの遊走や活性化に関わるパスウェイの活性化が認められた。また *in situ* hybridization 法において再生/空胞化尿細管における IL-34 mRNA の発現が亢進していることが示され、さらにこれらの尿

細管周囲には CD68 陽性のマクロファージが多く認められた。

C-2-4. 化学物質曝露によって誘発される発達神経毒性に関する研究

行動影響が検出された際に、関連する影響が観察されやすい海馬歯状回を中心に免疫組織化学を行った結果、各細胞の主要な分化マーカーについて、成熟ニューロン（NeuN）、新生ニューロン（DCX、NeuroD1）、神経幹細胞（Nestin、SOX2）、アストロサイト（GFAP）、オリゴデンドロサイト（MAG）の発現及び局在を安定して検出できることを確認した。また、行動試験の結果から、イミダクロプリド幼若期投与群において、コントロール群と比較して、オープンフィールド試験における移動回数の有意な減少、移動速度の有意な増加が認められた。明暗往来試験については、不安関連行動の指標となる明室滞在時間、明暗往来数、暗室待機時間の有意な減少が認められた。さらに、条件付け学習記憶試験において、音-連想記憶の有意な低下が認められた。成熟期投与群においては、コントロール群と比較して、各行動影響の指標となるものに有意な差は認められなかった。

C-3. OECDに提出する資料の事前確認とOECDからの意見募集への対応

C-3-1. WNT対応

日本から、2023年度OECDに提出したSPSFは3件であったが、そのうち、フランスとの共同提案である以下の1件のみが採択された。

Me-Too validation of the reconstructed human epidermis Epiderm model for the

EpiSensA method

IATA for *in vitro* immunotoxicity 及びTG for the Bhas 42 cell transformation assayの提案は見送りとなった。ただし、完全な却下ではなく、IATA for *in vitro* immunotoxicity に関しては、前述したように、まずIATA事例報告を作成するよう指示された。TG for the Bhas 42 cell transformation assayに関しては、NGTxCにて、必要性を議論してから判断するというものであった。

2024年度のSPSFを提出するため、事前に東野分析官など（厚生労働省）、平林及び小島にて内容を確認し、修正を経たものが10月中旬にOECDに提出された。今年各国から提出された25件のSPSFの内、日本提案は6件であった。このうち、2023年度、却下されたTG for the Bhas 42 cell transformation assayも含まれる。これらのSPSFはWNTにて採択の有無が議論された。結果として、#10を除く5つのSPSFがOECD作業計画に載ることになった（2025年4月末現在）。

9 Revision of the TG 491 Applicability Domain for the Short Time Exposure Test Method (STE_{0.5}) with respect to the implementation of a defined approach for the Ocular Toxicity Predictions of surfactants
10 Newly Developed QSAR, Consensus Model for Predicting Skin Sensitization
11 Inclusion of the reconstructed human epidermis-based testing strategy (RTS) into OECD Test Guideline 497 on Defined Approaches for Skin Sensitisation

12 Proposal for revision of TG 442B to include the GHS subcategorization criterion for the LLNA: BrdU-ELISA

14 Detailed Review Paper for toxicokinetics

19 TG for the Bhas 42 cell transformation assay

C-3-2. ESCA

国際情報調査として ESCA 会合及び web 会議での主な議論や動向については、以下のとおりである。

ESCA では、参加国の科学者及び規制当局者を対象に、NAM を国際的に受け入れる際の科学的課題に関するアンケート調査が実施されている。具体的な課題として、i)動物試験でカバーされる複雑なエンドポイントに対する NAM の限界、ii)異なる NAM で結果が一致しない場合の解釈、iii)TG34 改訂による改善が期待されているが NAM の信頼性確立手法に時間を要すること、iv)NAM に関する情報制限やバリデーションの課題から行政での受入れに膨大な時間を要すること等が認識されている。なお、新規試験法の開発を進めるための方法論として、開発者と規制当局者間で使用範囲を定めて開発すること（concept of co-design）や、テストガイドライン化できない手法に対する枠組みなどが議論されている。

2024 年の ESCA 会合では複数のプロジェクトについて参加国間で意見交換が行われている。

7 月の ESCA/WPHA 合同会議では、2024 年第 2 四半期に ESCA 及び WPHA で実施され、ハザードアセスメント(HA)プログラムの現在の作業計画、新しい

IATA フレームワーク・テンプレート、HA 作業計画に追加された新規プロジェクト、将来の潜在的な作業領域に関するブレインストーミングの結果などが示された。まだまだ課題は多いが、変異原性分野におけるエラー訂正次世代シーケンシングに関する論文にみられるように科学的知識のギャップを埋めて科学者と規制当局の間の共通理解を構築するための重要な取り組みが行われていることも報告された。IATA については、研究データと試験ガイドラインにギャップがあるため、それをカバーする方法が必要で、発達神経毒性（DNT）で進行している非ガイドライン試験法の Defined Approaches（DA）が有用であるとの指摘があった。そのほか、多くの課題が示され、議論された。

7 月の ESCA 会議では、WPHA 及び WNT との協力関係を深化させることが有意義であるとした。その方法論として、①プロジェクトを支援するために専門家グループが設立された場合、プロジェクトの初期段階から専門家グループに参加する；② DNT やオミックスなど、すでに設立されている専門家グループに参加する；③成熟したドラフト文書の専門家レビューに参加する；④現在作業計画にないプロジェクトについて、WPHA によるレビューのための提案書を作成する；などが提案された。具体的な協力テーマとしては、①非標的分析；②最終製品を通じた化学物質の追跡；③暴露の優先順位付け戦略の指針；④リスクアセスメント（RA）に適用する人工知能（AI）に対する信頼性の構築な

どが挙げられた。WPHA からは、以下のトピックが提案されている。

- IATA から DA へのパイプライン
- MoA/エンドポイントによってサポートされるグループ化+RA
- 化学物質管理システム-環境保護の欠如
- ヒトの健康と生態毒性との関連
- 内分泌かく乱作用のギャップ-GHS 作業へのリンク
- AOPs が支援するその他のタイプの NAMS
- 経済分析／情報の価値
- 保護／予測フレームワーク
- 機械可読データ
- 機械学習／AI
- 挑戦的な化学物質

一方、ESCA が化学物質評価のための新たな科学に関心を持っているのに対し、WNT はすでに十分に検討され、妥当性が確認された方法に重点を置いているため、ESCA が WNT と協力するのに困難があるが、以下のテーマでの協力はあり得るとされた。

- 遺伝子変異評価のためのエラー補正次世代 DNA シーケンス (ecNGS) の応用に関する DRP
- TG における人工多能性幹細胞 (iPSC) 及び iPSC ベースのモデルの使用に関する DRP
- 肝臓オルガノイドを用いた特定標的臓器毒性 (肝臓) 試験法に関する DRP

そのほか、AOP プログラムに関する各種の報告や、ESCA ビューロー及び ESCA

フォーラムの設置についての報告があった。

1 月の ESCA リモート会議では、OECD Omics Reporting Framework (OORF) によるオミックス由来データによる評価プログラムの進行状況や、WNT のプロジェクト進行状況が報告された。また、心毒性と雌性不妊に関するものを含む AOP の提案や進行報告などが為された。

2024 年 ESCA 会合の議事録は現時点で未公表である。(参考までに 2023 年 ESCA 会合の議事録のリンク先を次に示す：

[https://one.oecd.org/document/ENV/CBC/WPR\(2024\)3/en/pdf](https://one.oecd.org/document/ENV/CBC/WPR(2024)3/en/pdf))。

ESCA プログラムは、OECD の活動の中で今後重要な役割を果たすものと考えられた。新しい試験法の開発を進めるに当たっては、第三者による科学的で客観的な査読・助言が必要である。ESCA は、その主体として有効な組織であると考えられる。

本邦での NAM 開発の支援や化学物質規制のために必要な対応の検討を行うために、OECD ESCA グループにおいて継続的に情報を収集することの重要性が認識された。

3. 国内情報収集

発癌病理研究会の演題の中には新規評価モデルを用いた演題もあり、たとえば受精鶏卵漿尿膜移植腫瘍モデル (CAM モデル) などは動物福祉に貢献でき、安価で迅速な抗がん剤の効果を評価できる NAM として有用なものと考えられた。また、がん細胞の糖代謝における解糖系

振動を1細胞レベルで計測・解析し、数理モデルを構築する演題があり、がんの悪性度を評価できる可能性を示した。

癌学会学術総会において、NAMsの開発や普及を直接の主題として論じる演題はほとんどなかったが、動物を用いない研究手法による報告は多く、特にオルガノイドを用いた研究が目立った。また、AIの利用に関しても広く議論されていた。

D. 考察

OECDにおける2024年度の日本の成果物は、EpiSensAがTG442Dに追記されて成立し、それに付随するEpiSensAの性能標準、IL-2 Luc LTT法のバリデーション報告書、IL-2 Luc LTT法バリデーションの第三者評価報告書及びGuidance Document on IATA for phototoxicity testingの5件である。実質的には、EpiSensAのTG及びGuidance Document on IATA for phototoxicity testingが成果物と言える。

一方、SPSFの採択率は、以前からの課題であり、2023年度も1/3しか採択できなかった。却下となった主な理由は、OECD加盟国の専門家と協力体制が構築できていなかったことによる。今後は、開発者の意見に流されず、国際協力体制の状況など、しっかりとした国内における事前審査体制を充実せねばならないと感じていたが、本年度は2025年4月のWNTにおいて、5/6が採択された。事前審査体制の賜物を考えられる。問題点を明確にしつつ、継続することが重要と考える。

なお、AOP、TG及びIATAの実験データ支援に関しては、腸肝循環のanimal MPS構築のため、マウスの肝臓ならびに小腸を由来とするオルガノイド培養を用いた基礎的データの蓄積に着手した。引き続き、肝臓及び小腸オルガノイドに被験物質を曝露することによるCYP誘導を含む初回通過効果の指標となる結果の蓄積を進め、*in vivo*と相関性のある*in vitro*毒性評価系構築に向けた検討を進め、種差を考慮したIVIVEに関する研究を進めていく。

γ -H2AX免疫染色は腎発がん物質の早期検出に関しては、本検出法が有用であることが示唆された。本手法は、OECDテストガイドライン407（齧歯類における28日間反復経口投与毒性試験）でのへの組み込みが容易であることから、OECDへの提案について検討を進める。

コリスチンの腎毒性メカニズムには一次的に障害を受けた尿細管から産生される炎症性サイトカインによる二次的な障害が関与していることが示唆された。本結果は腎毒性のAOP作製に資する有用な情報となることが期待され、引き続き実験データを蓄積する。

化学物質曝露によって誘発される発達神経毒性に関する研究で得られた結果や毒性発現機序の知見は、*in vitro*試験法の適用範囲を検討するための重要なデータとなり、最終的には、取得したデータによって構築されるAOPの枠組みに基づいたNAMの開発・活用につながると考えられる。加えて、国内外で開発されるNAMに対し、科学的・行政的観点からコメントを行う際にも有益であると考えられ、引き続き、発達神経毒性のAOP作

製に資する実験データを蓄積していく。

以上の研究を通して、TGやAOP開発に寄与していく所存である。

E. 健康危険情報

特になし

F. 結論

2024年度、皮膚感作性試験代替法EpiSensAがTG442Dに追記されて成立し、それに付随するEpiSensAの性能標準、免疫毒性試験IL-2 Luc LTT法のバリデーション報告書、IL-2 Luc LTT法バリデーションの第三者評価報告書及びGuidance Document on IATA for phototoxicity testingの5件がOECDにおいて採択され、9月までにOECDのホームページで公開された。

これらの得られた成果が我が国の厚生労働行政に反映されることを期待している。

G. 研究発表

G-1. 論文発表

1. Kasahara T, Yamamoto Y, Nakashima N, Imamura M, Mizumachi H, Suzuki S, Aiba S, Kimura Y, Ashikaga T, Kojima H, Ono A, Matsumoto K. Borderline Range Determined using Data from Validation Study of Alternative Methods for Skin Sensitization: ADRA, IL-8 Luc Assay, and EpiSensA, Journal of Applied Toxicology, 2024; 0:1-8.

<https://doi.org/10.1002/jat.4712>

2. Mathisen GH, Bearth A, Jones LB, Hoffmann S, Vist GE, Ames HM, Husøy T,

Svendsen C, Tsaïoun K, Ashikaga T, Bloch D, Cavoski A, Chiu WA, Davies HG, Giusti A, Hartung T, Hirabayashi Y, Hogberg HT, Joglekar R, Kojima H, Krishnan K, Kwon S, Osborne OJ, Roggen E, Rooney AA, Rousselle C, Sass JB, Sepai O, Simanainen U, Thayer KA, Tong W, Wikoff D, Wright F, Whaley P. Time for CHANGE: system-level interventions for bringing forward the date of effective use of NAMs in regulatory toxicology, Arch Toxicol, 2024;98:2299-2308. doi: 10.1007/s00204-024-03802-6.

3. Ambe K, Aoki Y, Murashima M, Wachino C, Deki Y, Ieda M, Kondo M, Hibi Y, Kimura K, Hamano T, Tohkin M. Prediction of cisplatin-induced acute kidney injury using an interpretable machine learning model and electronic medical record information. Clinical and Translational Science. 2025;18(1), e70115.
4. Ambe K, Nakamori M, Tohno R, Suzuki K, Sasaki T, Tohkin M, Yoshinari K. Machine learning-based in silico prediction of the inhibitory activity of chemical substances against rat and human cytochrome P450s. Chem. Res. Toxicol. 2024;37(11):1843-1850.
5. Ashikaga T, Hatano K, Iwasa H, Kinoshita K, Nakamura N, Ambe K, Tohkin M. Next Generation Risk Assessment Case Study: A Skin Sensitization Quantitative Risk Assessment for Bandrowski's Base Existing in Hair Color Formulations. Journal of Japanese Cosmetic Science Society. 2024;48(2):73-77.
6. Watanabe T, Ambe K, Tohkin M.

- Streamlining Considerations for Safety Measures: Adverse Drug Reactions to Japanese Drug Package Inserts Using a Machine -Learning Modeage Inserts. *Biol Pharm Bull.* 2024;47(3):611-619.
7. Watanabe T, Ambe K, Tohkin M. Predicting the Addition of Information Regarding Clinically Significant Adverse Drug Reactions to Japanese Drug Package Inserts Using a Machine -Learning Model. *Ther Innov Regul Sci.* 2024;58(2):357-367.
 8. Uneyama M, Toyoda T, Doi Y, Matsushita K, Akane H, Morikawa T, Ogawa K. A 13-week subchronic toxicity study of linalool oxide in Crl:CD(SD) rats. *Journal of Toxicologic Pathology.* 2024;37:151-161.
 9. Hashimoto K, Arakawa H, Imamura R, Nishimura T, Kitajima S, Sato T, Makiyama K, Ogawa T, Yokota S. A novel alternative method for long-term evaluation of male reproductive toxicity and its recovery using a pre-pubertal mouse testis organ culture system. *Journal of Applied Toxicology.* 2024;44(5):784-793. doi:10.1002/jat.4584.
 10. Kuwagata M, Doi Y, Saito H, Tsurumoto M, Igarashi T, Nishimura T, Taquahashi Y, Hirabayashi Y, Kitajima S. A 90-day repeated oral dose toxicity study of p-cymene in rats. *Fundamental Toxicological Sciences,* 2024;11:169-181. doi:10.2131/fts.11.169.
 11. Ono R, Kuwagata M, Naruse M, Watanabe A., Takano M, Hasegawa T, Takashima H, Yoshioka Y, Ochiya T, Hirabayashi Y, Kitajima S. Extracellular vesicle small RNAs secreted from mouse amniotic fluid induced by repeated oral administration of VPA to pregnant mice *Fundamental Toxicological Sciences,* 2024;11:37-56.
 12. 西村拓也, 直田みさき, 大久保佑亮, 平林容子. ICH S6 バイオ医薬品の非臨床安全性評価の見直しについて 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス 2024; 55:23-425.
 13. 西村拓也. ICH-S11 ガイドラインの WoE アプローチにおける考慮事項 ファームテクジャパン 2024;40:523-525.
 14. 西村拓也, 西村次平, 伊藤かな子, 高橋祐次. 医薬品開発における非臨床安全性評価の変遷. *日本獣医史学雑誌* 2024; 61:41-58.
 15. Nishida A, Sawada Y, Arai R, Ishibashi N, Suzuo M, Ohno A, Ashikaga T, Iijima K. Evaluation of the immunotoxicity potential of nanomaterials using THP-1 cells. *Front. Toxicol.,* 2024;6:1293147. <https://doi.org/10.3389/ftox.2024.1293147>.
 16. 平林容子, 足利太可雄, 小島肇夫. 非臨床安全性評価に用いられる非ヒト霊長類の供給不足をめぐる動き, 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス. 2024;55(3):195-197.
 17. 小島肇夫. 動物実験代替法の歴史, *Cosmetic Science,* 2024;10:56-63.
 18. 足利太可雄. 化粧品開発における動物を用いない皮膚感作性評価法開発の現状, *SSCI-Net News Letter.* 2024;6:3-6.
 19. 足利太可雄, 大野彰子, 小島肇夫, 平林容子. 日本動物実験代替法評価センター (JaCVAM) 令和 4～6 年報告書, AATEX-JaCVAM. 2024;12(1):35-41.

20. Yoshida A, Hashimoto Y, Akane H, Matsuyama S, Toyoda T, Ogawa K, Saito Y, Kikura-Hanajiri R, Arakawa N. Analysis of stratifin expression and proteome variation in a rat model of acute lung injury. *J Proteome Res* 24, 1941-1955, 2025
21. Takimoto N, Ishii Y, Mitsumoto T, Takasu S, Namiki M, Toyoda T, Shibutani M, Ogawa K. Involvement of nuclear atrophy of binucleated hepatocytes in the large micronucleus formation induced by rat hepatocarcinogen acetamide. *Toxicol Appl Pharmacol* 496, 117243, 2025
22. Yamazaki D, Ishida S. Global expansion of microphysiological systems (MPS) and Japan's initiatives: Innovation in pharmaceutical development and path to regulatory acceptance. *Drug Metab Pharmacokinet*, 2025:60:101047.
23. Yokota S, Hashimoto K, Sato T, Uemura K, Makiyama K, Nishimura T, Kitajima S, Ogawa T.: A long-term mouse testis organ culture system to identify germ cell damage induced by chemotherapy. *Curr Res Toxicol*. 2025, 11:8:100228. doi: 10.1016/j.crtox.2025.100228.eCollection 2025.
24. Kojima H. History of the Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) test guidelines for non-animal test methods in Japan. *Genes Environ*. 2025: 29;47(1):3. doi: 10.1186/s41021-024-00323-7.
25. 小島肇夫. 皮膚感作性評価法の変遷、日皮協ジャーナル, 2025:93, 59-64.
26. Akane H, Toyoda T, Matsushita K, Uneyama M, Morikawa T, Kosaka T, Tajima H, Aoyama H, Ogawa K. Comparisons of the sensitivity of histopathological and immunohistochemical analyses with blood hormone levels for early detection of antithyroid effects in rats treated with promoters of thyroid hormone metabolism. *Toxicol Pathol* (in press)
27. 山崎大樹, 石田誠一. “培養細胞が拓く創薬の今— 研究、規制、自動化、そして教育へ —”, MPS研究開発とレギュラトリーサイエンス, 古江美保監修, (株) シーエムシー・リサーチ, 東京 (2025)

G-2. 学会発表

1. 森川朋美, 豊田武士, 松下幸平, 赤根弘敏, 畝山瑞穂, 小川久美子. ラットを用いた L-ラムノースの 90 日間亜慢性反復経口投与毒性試験. 日本食品化学学会第 30 回総会・学術大会 (2024.5.24)
2. 平林容子. 経済協力開発機構 (OECD) が進める New Approach Methods を用いたリスクアセスメント 第 71 回日本実験動物学会総会 (2024.5.31)
3. Ishida S, Matsushita T, Sato K, Ashikaga T, Hirabayashi Y, Yamazaki D. Japanese approach to the proposal of an OECD Test Guideline using Gut-Liver MPS for the first pass effect analysis as a Context of Use of toxicokinetic simulator in chemical risk assessment, MPS World Summit 2024 (2024.6.13)
4. Okubo Y., Mizota K., Ohara R., Matsuura R., Hirabayashi Y., Nakajima Y., Fukuda J.: Developmental toxicity testing in human iPS cells through disruption of signal interaction. The 57th Annual Meeting of the Japanese Society of Developmental Biologists (2024.6.19)

5. Ashikaga T, Tanabe I, Ishikawa S, Mizoguchi I, Yoshimoto T. Development of an in vitro respiratory sensitization test based on a concept of a co-culture system between human bronchial epithelial cells and antigen presenting cells, LIVE 2024 (2024.6.20)
6. 吉田彩夏, 橋本由弥, 赤根弘敏, 豊田武士, 小川久美子, 齋藤嘉朗, 花尻(木倉)瑠理, 荒川憲昭. 急性肺損傷ラットモデルを用いた新規間質性肺炎バイオマーカーの発現機序解析. 日本プロテオーム学会 2024 (2024.6.28)
7. 安部賀央里. 機械学習を活用した薬剤性腎障害の予測モデルの開発 ワークショップ7 ICT は急性期の腎臓診療に変革をもたらすか? 第 67 回日本腎臓学会学術総会 (2024.6)
8. 安部賀央里. データベースと機械学習を活用した副作用予測研究シンポジウム 5 医療 DX 時代を先導する「薬学×データサイエンス」の取り組み 第26回医薬品情報学会総会・学術大会 (2024.6)
9. 溝田 華柊, 大原 凜太郎, 松浦 利絵子, 平林容子, 中島 芳浩, 大久保 佑亮, 福田 淳二. ヒト iPS 細胞を用いた FGF シグナルかく乱の自動測定による発生毒性評価, 第 51 回日本毒性学会学術年会 (2024.7.3)
10. 徳永朱莉, 木下啓, 安部賀央里, 山田隆志, 足利太可雄, 頭金正博. 機械学習を活用した皮膚感作性強度予測モデルの開発と解釈性向上に向けた検討, 第 51 回日本毒性学会学術年会 (2024.7.3)
11. 畠山瑞穂, 豊田武士, 赤木純一, 赤根弘敏, 森川朋美, 小川久美子. γ -H2AX と幹細胞マーカーの免疫染色を用いたラット肝発がん物質早期検出法の検討. 第 51 回日本毒性学会学術年会 (2024.7.3)
12. 齊藤洋克, 横田 理, 北嶋 聡. セルトリ細胞におけるビメンチンの免疫組織化学的变化と精子形成不全との関連 第 51 回日本毒性学会学術年会 (2024.7.3)
13. 豊田武士, 赤根弘敏, 高須伸二, 石井雄二, 松下幸平, 畠山瑞穂, 森川朋美, 小坂忠司, 田島均, 青山博昭, 小川久美子. ラット 28 日間反復投与毒性試験における病理組織学的/免疫組織化学的解析による抗甲状腺物質の早期検出及び機序推定. 第 51 回日本毒性学会学術年会(2024.7.4)
14. 赤根弘敏, 高須伸二, 魏民, 藤岡正喜, 豊田武士, 石井雄二, 畠山瑞穂, 森川朋美, 津田洋幸, 小川久美子. ラットを用いた化学物質の吸入による毒劇物の判定における経気管肺内噴霧投与 (TIPS) 法と全身吸入暴露法の比較. 第 51 回日本毒性学会学術年会(2024.7.5)
15. 松浦 利絵子, 大原 凜太郎, 溝田 華柊, 平林容子, 中島 芳浩, 福田 淳二, 大久保 佑亮. Wnt シグナルのかく乱作用を基にしたヒト iPS 細胞を用いた発生毒性評価, 第 51 回日本毒性学会学術年会 (2024.7.5)
16. 成田和人, 小林美和子, 佐藤明日香, 楠木俊江, 清水淳, 伏原和久, 宮崎和雄, 立花 滋博, 小島肇. In vitro 発熱性物質試験における NEP 検出の妥当性, 第 51 回日本毒性学会学術年会 (2024.7.5)
17. 足利太可雄, 大屋賢司, 加藤節史, 北川剛史, 小島肇, 寒水孝司, 林克彦, 立花滋博, 益森勝志, 三嶋隆, 楠木俊江, 清水淳, 伏原和久, 宮崎和雄. 機ヒト末梢血から樹立した不死化単球細胞株を用いた発熱性物質検出系のバリデーション研究, 第 51 回日本毒性学会学術年会 (2024.7.5)

18. 三ヶ島史人, 真木一茂, 小島肇, 栗形麻樹子, 大久保佑亮, 星野裕紀子, 片桐龍一, 石黒司, 渡部一人, 角崎英志, 下村和裕. 医薬品の生殖発生毒性試験及び生殖発生毒性評価代替法に係る状況調査、第 51 回日本毒性学会学術年会 (2024.7.5)
19. 飯島一智, 山城真輝, 坂本玲奈, 大野彰子, 足利太可雄. 種々の酸化亜鉛ナノ粒子を対象とした抗原提示細胞活性化能の評価と活性化機序の解析, 第 51 回日本毒性学会学術年会 (2024.7.5)
20. Nishimura T, Hirabayashi Y, Ogawa K, Tsunoda S, Suzuki M, Sato G, Yuji Taquahashi Y. Update and Compilation of the database of the glossary for nonclinical toxicity studies ‘Dokuseishiken Yougoshuu’. 第 51 回日本毒性学会学術年会(2024.7.6)
21. 安部賀央里. AI/機械学習 in 毒性学 ～化学物質の毒性予測モデル開発～ ワークショップ2 ミライの毒性学 明日から役立つ最先端技術 第 51 回日本毒性学会学術年会(2024.7)
22. 鈴木孝太郎, 安部賀央里, 有吉純平, 神谷由紀子, 頭金正博. ギャップマー型アンチセンスによるマウスでの血液中アラニンアミノトランスフェラーゼ上昇を予測するための in silico モデルの開発, 第 51 回日本毒性学会学術年会 (2024.7)
23. 大久保 佑亮, 溝田 華柊, 大原 凜太郎, 松浦 利絵子, 平林 容子, 中島 芳浩, 福田 淳二.リアルタイム発光法を用いたシグナルかく乱を基にした in vitro 発生毒性評価法の開発, 第 64 回日本先天異常学会学術集会 (2024.7.27)
24. Hirabayashi Y. Recent Initiatives of JaCVAM for Regulatory Acceptance of Safety Evaluation of NAMs including MPS. Singapore International Food Forum (2024.8.1)
25. 赤木純一, 水田保子, 畝山瑞穂, 赤根弘敏, 松下幸平, 豊田武士, 小川久美子. さまざまな結晶子径の二酸化チタン粒子のラットへの 90 日間反復経口投与による生体影響と蓄積性の検討. 第 37 回発癌病理研究会 (2024.8.22)
26. Yamazaki D, Horiuchi S, Ikeda Y, Shinha K, Koda N, Masuo Y, Kimura H, Kato Y. Development of an evaluation system for drug-induced cardiotoxicity via hepatic metabolism using co-culture of human cryopreserved hepatocytes and engineered heart tissue. EUROTOX 2024 (2024.9.9, Denmark)
27. 小島肇. 動物実験代替法から New Approach Methodologies (NAM) への変遷, 第 14 回レギュラトリーサイエンス学会 (2024.9.13)
28. 平林容子. 代替法の行政的受け入れにかかる JaCVAM の役割 第 14 回 レギュラトリーサイエンス学会学術大会 (2024.9.13)
29. Liu L, Ambe K, Onishi M, Yoshii Y, Makino T, Tohkin M. Comparison of Multiple Disease-Modifying Antirheumatic Drugs Combination Therapies with Methotrexate in Rheumatoid Arthritis: A Systematic Review and Bayesian Network Meta-Analysis of Efficacy and Safety The 9th Nagoya / Gifu / Shenyang / Nanjing Symposium of Pharmaceutical Sciences 2024 Nagoya (2024.9)
30. 安部賀央里. 機械学習を活用したレギュラトリーサイエンス研究 講演 データ解析を取り入れたレギュラトリーサイエンス研究の紹介 第 10 回次世代を担う若

- 手のためのレギュラトリーサイエンス
フォーラム(2024.9)
31. 安部賀央里. 機械学習を用いた副作用予測に関する研究 シンポジウム 100 歳を超える健康設計への挑戦 第 25 回応用薬理シンポジウム (2024.9.)
 32. 安部賀央里. New Approach Methodologies (NAMs) を活用した皮膚感作性強度予測に向けた機械学習モデルの開発 フォーラム II New Approach Methodologies (NAMs) による毒性の評価 フォーラム 2024 衛生薬学・環境トキシコロジー (2024.9)
 33. 久下恒明, 杜婉瑩, 豊田武士, 大本安一, 安川佳美, 大津洋, 吉田寛, 竹島秀幸, 牛島俊和, 野村幸世. 胃癌切除後も門脈血流を介した IL-6 の刺激により肝で TFF3 が高発現するメカニズム. 第 83 回日本癌学会学術総会 (2024.9.20)
 34. 豊田武士, 赤根弘敏, 小川久美子. γ -H2AX 免疫染色を指標としたラット腎発がん物質の早期検出. 第 83 回日本癌学会学術総会 (2024.9.21)
 35. 吉田彩夏, 橋本由弥, 赤根弘敏, 豊田武士, 小川久美子, 齋藤嘉朗, 花尻(木倉)瑠理, 荒川憲昭. 急性肺損傷ラットモデルによる新規びまん性肺胞傷害マーカーSFN の発現機序解析. 第 10 回次世代を担う若手のためのレギュラトリーサイエンスフォーラム (2024.9.21)
 36. 赤根弘敏, 高須伸二, 石井雄二, 小川久美子, 豊田武士. 病理組織学的及び免疫組織化学的解析を用いた抗甲状腺物質の早期検出. 第 83 回日本癌学会学術総会 (2024.9.21)
 37. 足利太可雄. 動物実験代替法の国際動向と国内行政受け入れの取り組み, 皮膚基礎研究クラスターフォーラム 第 18 回教育セミナー (2024.9.26)
 38. 安部賀央里. 皮膚感作性評価における機械学習モデルの活用 スポンサーシップ シンポジウム 革新的創薬支援ツールとしての New Approach Methodologies (NAMs) 最前線 CBI 学会 2024 年大会 (2024.10)
 39. 溝田華柊, 村山航己, 松浦利絵子, 平林容子, 中島芳浩, 大久保佑亮, 福田淳二: ヒト iPS 細胞を用いた FGF シグナルかく乱を指標とした発生毒性評価. 日本バイオマテリアル学会 シンポジウム 2024 (2024.10.28)
 40. Reinke E, Ulrey A, Hoffmann S, Basketter D, Corsini E, Ashikaga T, Gerberick F. Peer Review for Validation Studies: Building Confidence and Transparency into a New Validation Paradigm, ASCCT 13th Annual Meeting (2024.10.29)
 41. Kojima H. A systematic Review on the Safety Evaluation of Food Additives without Animal Testing, 18th China International Food Safety & Quality Conference, (2024. 10.31)
 42. Kojima H. International progress on the development and regulatory application of NAMs/Alternatives Symposium on Innovative Collaboration in Toxicology Alternative Methods in Shanghai (2024.11.2)
 43. Yamazaki D. Development of a liver-heart co-culture system using a microfluidic plate to evaluate drug-induced cardiotoxicity via hepatic metabolism. SELECT BIO, Lab-on-a-Chip Asia 2024 (2024.11.7-8)
 44. Hirabayashi Y. Initiatives for the regulatory use of alternative methods to animal testing. Next generation nonclinical safety

- evaluation– Alternatives to animal testing in drug discovery and development – Nonclinical toxicology related event, (2024.11.13)
45. 赤木純一, 水田保子, 畝山瑞穂, 赤根弘敏, 松下幸平, 豊田武士, 小川久美子. ラットを用いた二酸化チタンナノ粒子の反復経口曝露による生体影響の検討. 第 47 回日本分子生物学会年会(2024.11.29, 横浜)
46. 村山航己, 溝田華穂, 松浦利絵子, 平林容子, 中島芳浩, 大久保佑亮, 福田淳二: ヒト iPS 細胞を用いたシグナルかく乱作用を基にした発生毒性評価法における補完的なシグナル経路の検討. 日本動物実験代替法学会 第37回大会 (2024.11.30)
47. 溝田華穂, 村山航己, 松浦利絵子, 平林容子, 中島芳浩, 大久保佑亮, 福田淳二: ヒト iPS 細胞を用いた FGF シグナルかく乱作用の自動測定による発生毒性評価. 日本動物実験代替法学会 第 37 回大会 (2024.11.30)
48. 早川知里, 安部賀央里, 山田隆志, 吉成浩一, 頭金正博. 機械学習によるヒトアセチルコリンエステラーゼ活性阻害の *in silico* 予測モデルの開発 日本動物実験代替法学会 第 37 回大会 (2024.11)
49. 徳永朱莉, 木下啓, 岩佐帆乃夏, 波多野浩太, 中村伸昭, 足利太可雄, 安部賀央里. アミノ酸誘導体結合性試験 ADRA 等を使用した強感作性物質の皮膚感作性強度を予測する機械学習モデルの開発, 日本動物実験代替法学会 第 37 回大会 (2024.11.30)
50. 小島肇. JaCVAM の成果と今後の課題, 日本動物実験代替法学会 第 37 回大会 (2024.11.30)
51. 前田洋祐, 佐藤亜紗子, 武吉正博, 立花滋博, 成田和人, 小林諒太, 島田真理子, Priyanka M, Rahul D, Abhay D, Namhee K, Miriam J, 福山朋季, 松本一彦, 赤堀有美, 足利太可雄, 大野彰子, 小島肇, 小野敦. 皮膚感作性試験代替法 α -Sens® の Validation 研究 (Phase I), 日本動物実験代替法学会 第 37 回大会 (2024.11.30)
52. 村上 諒一, 今村 弥佳, 館下 正和, 小島 肇, 疋田 泰士. ルールベースモデル, LLNA 及び GPMT 統計ベースモデルを用いた皮膚感作性評価のための *in silico* コンセンサスモデル, 日本動物実験代替法学会 第 37 回大会 (2024.11.30)
53. 稲葉 剛士, 新家 功大, 加藤 由布, 平松 範子, 杉原 英志, 滝本 哲也, 佐谷 秀行, 小島 肇, 山本 直樹. 医薬品の生殖発生毒性試験代替法に有用なヒト由来細胞株を用いた評価試験法の開発, 日本動物実験代替法学会 第 37 回大会 (2024.11.30)
54. 大野彰子, 沖山佳生, 山城真輝, 飯島一智, 足利太可雄. ナノマテリアルの免疫毒性評価系における *in vitro* h-CLAT 試験法の有用性, 日本動物実験代替法学会 第 37 回大会 (2024.11.30)
55. 石橋直樹, 大野彰子, 足利太可雄, 飯島一智: 気管支モデルとの共培養系を用いた各種シリカナノ粒子の THP-1 細胞活性化能の評価と活性化メカニズムの解析, 日本動物実験代替法学会 第 37 回大会 (2024.11.30)
56. 荒井りおん, 大野彰子, 足利太可雄, 飯島一智: ナノマテリアル吸入毒性試験法の開発に向けた、各種シリカナノ粒子曝露による THP-1 細胞活性化のメカニズム解析と新規評価指標候補遺伝子の発現解析, 日本動物実験代替法学会 第 37 回大会 (2024.11.30)

57. 坂本玲奈, 山城真輝, 大野彰子, 足利太可雄, 飯島一智. 気管支モデル／THP-1 細胞共培養系を用いた酸化亜鉛ナノ粒子の免疫細胞活性化能の評価, 日本動物実験代替法学会 第 37 回大会 (2024.11.30)
58. 足利太可雄. 皮膚感作性試験代替法の行政活用状況, 日本動物実験代替法学会 第 37 回大会 (2024.12.1)
59. 廣田京飛, 大森清美, 内田和歌奈, 山岸夏望, 小沼泰子, 宮本健司, 内田絢斗, 白川真一, 福田淳二. Vision Transformer を用いた Bhas42 細胞形質転換試験のフォーカス判定モデルの構築. 日本動物実験代替法学会第 37 回大会 (2024.11.29-12.1)
60. Ambe K. Prediction of skin sensitization using machine learning JSAAE & ASCCT-ESTIV Joint Webinar (2024.12.4)
61. 山上洋平, 石井雄二, 笠松建吾, 高須伸二, 相馬明玲, 豊田武士, 村上智亮, 小川久美子. ラット初代肝細胞を用いた acetamide が誘発する大型小核の形成機序に関する研究. 日本環境変異原ゲノム学会第 53 回大会 (2024.12.7)
62. 齊藤洋克. 周産期マウスへの化学物質曝露による遅発性情動・認知行動毒性の検出 日本内分泌攪乱物質学会第 26 回研究発表会 (2024.12.7)
63. 高須伸二, 石井雄二, 相馬明玲, 笠松建吾, 山上洋平, 豊田武士, 小川久美子. *gpt delta* ラットを用いた 6-methoxyquinoline の *in vivo* 変異原性の評価. 日本環境変異原ゲノム学会第 53 回大会 (2024.12.8)
64. 五十嵐智女, 相田麻子, 横田理, 西村拓也, 高橋祐次, 桑形麻樹子, 北嶋聡. 内分泌かく乱化学物質のスクリーニング評価における子宮肥大試験の継続的な取り組み, 日本内分泌攪乱物質学会 第 26 回研究発表会 (2024.12)
65. 煙山紀子, 畠中理園, 佐野心優, 大橋清佳, 前川竜也, 中江大, 美谷島克宏. 第 41 回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2025.1.30)
66. 石井雄二, 相馬明玲, 山上洋平, 笠松建吾, 高須伸二, 豊田武士, 小川久美子. 低分子アミド化合物によるラット肝細胞質内封入体形成の検討. 第 41 回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2025.1.30)
67. 赤木純一, 水田保子, 畠山瑞穂, 赤根弘敏, 松下幸平, 豊田武士, 小川久美子. F344 ラットへの反復経口投与によりパイエル板に沈着した二酸化チタン粒子による生体影響の検討. 第 41 回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2025.1.30)
68. 山上洋平, 石井雄二, 高須伸二, 相馬明玲, 笠松建吾, 豊田武士, 村上智亮, 小川久美子. アセトアミド誘発の大型小核による chromothripsis の発生機構. 第 41 回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2025.1.30)
69. 高須伸二, 赤根弘敏, 石井雄二, 豊田武士, 津田洋幸, 小川久美子. 経気管肺内噴霧投与 (TIPS) 法による急性毒性試験における投与液量及び投与濃度の影響. 第 41 回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2025.1.31)
70. 赤根弘敏, 高須伸二, 魏民, 藤岡正喜, 豊田武士, 石井雄二, 畠山瑞穂, 森川朋美, 津田洋幸, 小川久美子. 吸入による毒劇物の判定における経気管肺内噴霧投与 (TIPS) 法の有用性の検討. 第 41 回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2025.1.31)

71. 畝山瑞穂, 豊田武士, 赤木純一, 赤根弘敏, 森川朋美, 小川久美子. 発がん機序に基づく免疫染色を用いたラット肝発がん物質の早期検出法の検討. 第41回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2025.1.31)
72. 松下幸平, 豊田武士, 赤木純一, 水田保子, 小川久美子. コリスチン誘発腎毒性のメカニズム解明. 第41回日本毒性病理学会 (2025.1.31)
73. Nishimura T, Maki K, Kinoshita K, Suzuki M, Nakazawa T, Naota M, Mikashima F, Hirabayashi Y. The Current Situation and Challenges in Non-Clinical Safety Evaluation of Biopharmaceuticals in Japan. Society of Toxicology (2024.3.11)
74. Toyoda T, Matsushita K, Akane H, Uneyama M, Morikawa T, Ogawa K. Short-term evaluation of mucosal toxicity and carcinogenicity of aromatic amines in the rat urinary bladder by histopathology and γ -H2AX immunostaining. 64th Annual Meeting of the Society of Toxicology (2025.3.17)
75. Naota M, Nishimura T, Okubo Y, Suzuki Y, Suzuki M, Kinoshita K, Watanabe K, Nakazawa T, Onodera H, Kuwagata M, Hirabayashi Y. Survey on safety profile of general toxicity Studies using non-human primates for Antibody drugs approved in Japan after revision of ICH-S6, The 64th Annual Meeting of the Society of Toxicology (2025.3.17)
76. Yamagami Y, Ishii Y, Nakamura K, Takasu S, Toyoda T, Murakami T, Shibutani M, Ogawa K. Investigation of the involvement of chromothripsis in the acetamide-induced hepatocarcinogenesis in rats. 64th Annual Meeting of the Society of Toxicology (2025.3.18)
77. Ishii Y, Nakamura K, Yamagami Y, Takasu S, Nohmi T, Toyoda T, Shibutani M, Ogawa K. Investigations of the mechanism underlying acetamide-induced hepatocarcinogenesis in rat. 64th Annual Meeting of the Society of Toxicology (2025.3.18)
78. Akane H, Toyoda T, Uneyama M, Morikawa T, Kosaka T, Aoyama H, Ogawa K. Effective method for early detection and mechanism estimation of antithyroid chemicals by histopathological and immunohistochemical analyses in rats. 64th Annual Meeting of the Society of Toxicology (2025.3.18)
79. Akagi J, Mizuta Y, Uneyama M, Akane H, Matsushita K, Toyoda T, Ogawa K. Study of the biological effects of titanium dioxide with three different crystallite sizes following repeated oral administration in F344 rats. 64th Annual Meeting of the Society of Toxicology (2025.3.18)
80. Ogawa K, Akane H, Takasu S, Gi M, Fujioka M, Ishii Y, Uneyama M, Morikawa T, Wanibuchi H, Tsuda H, Toyoda T. Comparison of the intra-tracheal intrapulmonary spraying (TIPS) and the systemic inhalation methods in rats for the classification of hazardous chemicals based on the GHS acute inhalation toxicity. 64th Annual Meeting of the Society of Toxicology (2025.3.19)
81. Aoshima H, Ishikawa S, Tanabe I, Mizoguchi I, Yoshimoto T, Ashikaga T. Investigation of the Differential Biological Effects of Skin and Respiratory Sensitizing Chemicals Using a Co-Culture System of

Bronchial Epithelium and Dendritic Cells
(2025.3.19)

82. 赤木純一，水田保子，畝山瑞穂，赤根弘敏，松下幸平，豊田武士，小川久美子．ラットへの経口摂取によりパイエル板に取り込まれた二酸化チタンナノ粒子の毒性影響の検討．日本薬学会第145年会 (2025.3.26)
83. 吉田彩夏，橋本由弥，赤根弘敏，豊田武士，小川久美子，齋藤嘉朗，花尻(木倉)瑠理，荒川憲昭．オレイン酸誘発急性肺損傷ラットモデルにおけるストラテフィン発現とプロテオームの変動．日本薬学会第145年会 (2025.3.27)
84. 畝山瑞穂，チェンバース ジェームズ，赤根弘敏，豊田武士，内田和幸．IL-1レセプターアンタゴニスト KO マウスに生じた滑膜肉腫の1例．第12回日本獣医病理学専門家協会学術集会 (2025.3.28)

I. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

I-1. 特許取得

特になし

I-2. 実用新案登録

特になし

I-3. その他

特になし

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）

国内外で開発されOECDで公定化されるNAMを活用した試験法の行政的な
受け入れに対応するための研究

令和 6 年度分担研究報告書

バリデーション基準の改定対応および皮膚感作性試験のTG開発

研究分担者 足利太可雄

国立医薬品食品衛生研究所 ゲノム安全科学部 室長

研究要旨

OECD で行われているバリデーション基準の改定に対応するため、2024 年 4 月 22－23 日と 12 月 9－10 日に行われた GD34 改定プロジェクト会議に参加し、**readiness criteria** と呼ばれる事前評価書のあり方を中心に議論を行った。新規皮膚感作性試験代替法の OECD テストガイドライン化については、研究分担者小島および研究協力者の赤堀（CERI）らとともに、OECD TG442D に CERI が開発した皮膚感作性試験代替法 α -Sens の収載を目指して OECD 対応などを行い、研究分担者小島および研究協力者の立花（食薬センター）らとともに、EpiSensA の新規表皮モデルの TG の採択を目指した国際”me-too”バリデーションに参加した。さらに、研究協力者の笠原（富士フィルム）らとともに、OECD GL497 に日本で開発された試験法の追加収載を目指して必要な情報の提供およびコメント対応を行った。

A. 研究目的

全身毒性など複雑な毒性を動物実験代替法（以下、代替法）により評価するためには、*in vitro/in silico* 試験法を、試験と評価のための統合的アプローチ(*integrated approaches to testing and assessment: IATA*)により組み合わせる必要があり、それを可能にするために、経済協力開発機構 (OECD) の試験法ガイドライン (TG) プログラム各国調整官作業グループ (WNT) において、代替法に用いる新興技術の公定化のためのバリデーションを加速するための基準や仕組み (GD34) の改定を検討している。現状でもバリデーションには膨大な費用と時間がかかり、今後想定される全身毒性の TG 開発には適用困難とされているためである。

また皮膚感作性については、国内で新たな試験法が開発されており、そうした試験法を OECD TG 化するとともに、従来 TG 化された試験法も含め、さらなる社会実装のためにデファインド アプローチ (DA: *Defined Approach*, 定義済み総合判定方式) である OECD ガイドライン 497 の改定・拡充を推進する必要がある。

そこで本研究では、OECD における GD34 改定プロジェクトに参画し、我が国の意向を反映させ、今後とも厳格性と効率性を両立したバリデーションのありかたを確立させることと、また我が国で開発された皮膚感作性試験をタイムリーに OECD ガイドライン化することを目的とした。

B. 研究方法

バリデーション基準の改定対応について

では、2024年4月22-23日と12月9-10日に行われたGD34改定プロジェクト会議に参加し、readiness criteria と呼ばれる事前評価書のあり方を中心に議論を行った。またメールでのコメント募集にも対応した。

皮膚感作性試験のテストガイドライン開発については、 α -Sens および GL497 に日本で開発された試験法の追加収載では主に OECD 皮膚感作性専門家会議に参加し、必要な情報やコメントを提出した。EpiSensA の新規表皮モデルのバリデーション(Epi2SensA me-too バリデーション)については、バリデーション実行委員会のメンバーとして運営に参加した。

(倫理面への配慮)
特になし。

C. 研究結果

バリデーション基準の改定対応については、2回のプロジェクト会議において以下のような議論が行われた。すなわち、これまでよりも柔軟で効率化されたプロセスが必要、pre-validation から事前評価(readiness criteria)へ移行すべき(このことにより事前評価の成績によってバリデーションを簡素化または省略可能となる)、開発企業自身によるバリデーションの可能性、DA 先行タイプの GL 開発の可能性(個別の代替法をバリデーションした後に DA により統合するのではなく、まず DA を開発してから個別の試験法を当てはめる)。特に readiness criteria については、in vitro 試験法だけでなく DA に関する定型フォーマット案も作成され、検討が続いている。こうした検討は、readiness criteria を設定することで、バリデーションを実施する前に、開発者に技術移転性などガイドライン化に必要な情報を取得させ、その結果バ

リデーションの効率化とガイドラインの厳格性を両立させることが可能との考えに基づいているが、有効性については賛否が分かれている状況である。また、従来のバリデーションでは、in vitro 試験結果をもとに、あらかじめ設定したカットオフ値により、陰性/陽性を判別し、施設間および施設内再現性を評価してきたが、今後の全身毒性試験では、各施設で得られた in vitro 試験の用量反応性結果から再現性を評価する統計学的アプローチが必要とされることから、新たな解析手法に関する議論が行われている。

皮膚感作性試験のテストガイドライン開発については、以下のように進めた。JaCVAM で行なわれている α -Sens のバリデーションについては OECD にその進捗状況を伝え、OECD のプロジェクトとして問題なく進んでいることの理解を得た。Epi2SensA については、Non-coded の被験物質 5 品で Phase I としてトレーニングを実施し、偽陽性(Salicylic acid)、偽陰性物質(Eugenol)はあったが、全参加施設で同じ評価であったことから技術移転性は問題なしと判断された。続いて施設間再現性を確認するために coded 被験物質により繰り返し試験を実施した。Code 開示は今後行われる予定である。ただし、費用と期限の観点から、参加施設の一般財団法人食品薬品安全センターと協議し日本は Phase II までの参加となった。日本で開発された試験法の OECD GL497 への追加収載については、まず、2024年6月に TG 化された EpiSensA も含め検討いただくことを OECD 皮膚感作性専門家グループに提案し、最終的には WNT の確認も経て承認された。そこで7月以降に ADRA, EpiSensA, および IL-8 Luc assay それぞれのボーダーラインレンジを算出し、それらの値に基

づいて既存の試験法と置換した場合の *in vivo* との対応性も算出し、既存の試験法と同等の予測性を有していることを示した。

D. 考察

バリデーション基準の改定対応については、現時点の方向性としては、*readiness criteria* と呼ばれる、事前評価書のテンプレートに、開発者自身が技術移転性を示すデータなどを取得の上記載することでバリデーションの効率化を実現しようとしている。これにより JaCVAM などバリデーション実施機関の負担は軽減化されるものの、開発者の負担はかえって増えるという指摘もあり、方向性が定まるにはなお紆余曲折があると予想される。また機械学習など *in silico* による予測モデルのバリデーションをどのように行うべきかについては未だ議論も行われていない。以上より、GL34 のドラフトが作成されるまで今後多くの時間を要すると考えられる。日本からはこれまでのバリデーションで得た知見を基に、現実的な効率化について提言を行っていく。

バリデーションの効率化にも関連するが、Epi2SensA の *me-too* バリデーションについては、海外からヒト培養表皮モデルを輸入することが費用や納期の面で大きな課題であった。今回の *me-too* のバリデーション実施の前に、参加施設数や被験物質数など研究デザインを十分に検討すべきであったことが反省点として挙げられる。

OECD GL497 への日本で開発された試験法の追加収載については、研究協力者の尽力もあり、迅速に必要な解析を実施できた結果、昨年度承認されたばかりの EpiSensA も含め、OECD GL497 への日本で開発された試験法の追加収載については、新たに 3 種の試験法を GL497 に収載

できる可能性が高まった。これにより、h-CLAT も含め GL497 で使用可能となった試験法は 4 種類となり、今後日本発の皮膚感作性試験代替法の汎用性が大きく向上することが期待される。

E. 結論

OECD で実施されているバリデーション基準の改定に対応するため GD34 改定プロジェクト会議に参加し、*readiness criteria* と呼ばれる事前評価書のあり方を中心に議論を行った。新規皮膚感作性試験代替法の OECD テストガイドライン化については、EpiSensA の新規表皮モデルの TG の採択を目指した国際“*me-too*”バリデーションに Phase II まで参加した。さらに、OECD GL497 に日本で開発された試験法の追加収載を目指して必要な情報の提供およびコメント対応を行った。

F. 研究発表

F.1. 論文発表

1. Nishida A, Sawada Y, Arai R, Ishibashi N, Suzuo M, Ohno A, Ashikaga T, Iijima K: Evaluation of the immunotoxicity potential of nanomaterials using THP-1 cells. *Front. Toxicol.*,2024;6:1293147. <https://doi.org/10.3389/ftox.2024.1293147>.
2. Ashikaga T, Hatano K, Iwasa H Kinoshita K, Nakamura N, Ambe K, Tohkin M: Next Generation Risk Assessment Case Study: A Skin Sensitization Quantitative Risk Assessment for Bandrowski's Base Existing in Hair Color Formulations, *Journal of Japanese Cosmetic Science Society*. 2024;48(2):73-77.
3. Kasahara T, Yamamoto Y, Nakashima N, Imamura M, Mizumachi H, Suzuki S, Aiba

- S, Kimura Y, Ashikaga T, Kojima H, Ono A, Matsumoto K: Borderline Range Determined Using Data From Validation Study of Alternative Methods for Skin Sensitization: ADRA, IL-8 Luc Assay, and EpiSensA, Journal of Applied Toxicology. 2025;45(3):432-439.
<https://doi.org/10.1002/jat.4712>
4. Mathisen GH, Bearth A, Jones LB, Hoffmann S, Vist GE, Ames HM, Husøy T, Svendsen C, Tsaioun K, Ashikaga T, Bloch D, Cavoski A, Chiu WA, Davies HG, Giusti A, Hartung T, Hirabayashi Y, Hogberg HT, Joglekar R, Kojima H, Krishnan K, Kwon S, Osborne OJ, Roggen E, Rooney AA, Rousselle C, Sass JB, Sepai O, Simanainen U, Thayer KA, Tong W, Wikoff D, Wright F, Whaley P. Time for CHANGE: system-level interventions for bringing forward the date of effective use of NAMs in regulatory toxicology, Arch Toxicol, 2024;98:2299-2308. doi: 10.1007/s00204-024-03802-6.
 5. 平林容子, 足利太可雄, 小島肇夫: 非臨床安全性評価に用いられる非ヒト霊長類の供給不足をめぐる動き, 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス. 2024;55(3):195-197. https://doi.org/10.51018/pmdrs.55.3_195.
 6. 足利太可雄: 化粧品開発における動物を用いない皮膚感作性評価法開発の現状, SSCI-Net News Letter. 2024;6:3-6.
 7. 足利太可雄, 大野彰子, 小島肇夫, 平林容子: 日本動物実験代替法評価センター (JaCVAM) 令和 4~6 年報告書, AATEX-JaCVAM. 2024;12(1):35-41.
 1. Ishida S, Matsushita T, Sato K, Ashikaga T, Hirabayashi Y, Yamazaki D: Japanese approach to the proposal of an OECD Test Guideline using Gut-Liver MPS for the first pass effect analysis as a Context of Use of toxicokinetic simulator in chemical risk assessment, MPS World Summit 2024 (2024.6.13)
 2. Ashikaga T, Tanabe I, Ishikawa S, Mizoguchi I, Yoshimoto T: Development of an in vitro respiratory sensitization test based on a concept of a co-culture system between human bronchial epithelial cells and antigen presenting cells, LIVE 2024 (2024.6.20)
 3. 徳永朱莉, 木下啓, 安部賀央里, 山田隆志, 足利太可雄, 頭金正博: 機械学習を活用した皮膚感作性強度予測モデルの開発と解釈性向上に向けた検討, 第 51 回日本毒性学会学術年会 (2024.7.3)
 4. 足利太可雄, 大屋賢司, 加藤節史, 北川剛史, 小島肇, 寒水孝司, 林克彦, 立花滋博, 益森勝志, 三嶋隆, 楠木俊江, 清水淳, 伏原和久, 宮崎和雄: 機ヒト末梢血から樹立した不死化単球細胞株を用いた発熱性物質検出系のバリデーション研究, 第 51 回日本毒性学会学術年会 (2024.7.5)
 5. 飯島一智, 山城真輝, 坂本玲奈, 大野彰子, 足利太可雄: 種々の酸化亜鉛ナノ粒子を対象とした抗原提示細胞活性化能の評価と活性化機序の解析, 第 51 回日本毒性学会学術年会 (2024.7.5)
 6. 足利太可雄: 動物実験代替法の国際動向と国内行政受け入れの取り組み, 皮膚基礎研究クラスターフォーラム 第 18 回教育セミナー (2024.9.26)

F.2 学会発表

7. Reinke E, Ulrey A, Hoffmann S, Basketter D, Corsini E, Ashikaga T, Gerberick F: Peer Review for Validation Studies: Building Confidence and Transparency Into a New Validation Paradigm, ASCCT 13th Annual Meeting (2024.10.29)
8. 前田洋祐, 佐藤亜紗子, 武吉正博, 立花滋博, 成田和人, 小林諒太, 島田真理子, Priyanka M, Rahul D, Abhay D, Namhee K, Miriam J, 福山朋季, 松本一彦, 赤堀有美, 足利太可雄, 大野彰子, 小島肇, 小野敦: 皮膚感作性試験代替法 α -Sens24C7 の Validation 研究 (Phase I), 日本動物実験代替法学会 第 37 回大会 (2024.11.30)
9. 大野彰子, 沖山佳生, 山城真輝, 飯島一智, 足利太可雄: ナノマテリアルの免疫毒性評価系における *in vitro* h-CLAT 試験法の有用性, 日本動物実験代替法学会 第 37 回大会 (2024.11.30)
10. 徳永朱莉, 木下啓, 岩佐帆乃夏, 波多野浩太, 中村伸昭, 足利太可雄, 安部賀央里: アミノ酸誘導体結合性試験 ADRA 等を使用した強感作性物質の皮膚感作性強度を予測する機械学習モデルの開発, 日本動物実験代替法学会 第 37 回大会 (2024.11.30)
11. 石橋直樹, 大野彰子, 足利太可雄, 飯島一智: 気管支モデルとの共培養系を用いた各種シリカナノ粒子の THP-1 細胞活性化能の評価と活性化メカニズムの解析, 日本動物実験代替法学会 第 37 回大会 (2024.11.30)
12. 荒井りおん, 大野彰子, 足利太可雄, 飯島一智: ナノマテリアル吸入毒性試験法の開発に向けた、各種シリカナノ粒子曝露による THP-1 細胞活性化のメカニズム解析と新規評価指標候補遺伝子の発現解析, 日本動物実験代替法学会 第 37 回大会 (2024.11.30)
13. 坂本玲奈, 山城真輝, 大野彰子, 足利太可雄, 飯島一智: 気管支モデル/THP-1 細胞共培養系を用いた酸化亜鉛ナノ粒子の免疫細胞活性化能の評価, 日本動物実験代替法学会 第 37 回大会 (2024.11.30)
14. 足利太可雄: 皮膚感作性試験代替法の行政活用状況, 日本動物実験代替法学会 第 37 回大会 (2024.12.1)
15. Aoshima H, Ishikawa S, Tanabe I, Mizoguchi I, Yoshimoto T, Ashikaga T: Investigation of the Differential Biological Effects of Skin and Respiratory Sensitizing Chemicals Using a Co-Culture System of Bronchial Epithelium and Dendritic Cells (2025.3.19)

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案登録
該当なし
3. その他
該当なし

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）

国内外で開発されOECDで公定化されるNAMを活用した試験法の行政的な 受け入れに対応するための研究

令和6年度分担研究報告書

肝臓並びに腸管オルガノイドを用いた*in vitro* toxicokinetics 評価系の構築

研究分担者 美谷島 克宏

東京農工大学応用生物科学部食品安全健康学科 教授

研究要旨

昨今、動物実験を用いないで全身毒性を評価するため、動物実験代替法の枠に捉われない概念として、New Approach Methodology (NAM) の開発が盛んである。NAM とは「動物実験の利用を避けた化学物質の有害性およびリスク評価における情報を用いるための技術、方法、アプローチ、またはその組み合わせ」と米国環境保護局（EPA）により定義されている。経済協力開発機構（OECD）の試験法ガイドライン（TG）プログラム各国調整官作業部会（WNT）や2023年に新設された Advisory Group on Emerging Science in Chemicals Assessment（ESCA）では、NAMに用いる新興技術の公定化のためのバリデーションを加速するための基準や仕組みの改定を促している。

本研究班は、このような世界的な動向に呼応して NAM の開発を加速し、新興技術に基づく評価法を公定化させるとともに、他国が提案する OECD 大型プロジェクトに関与し、得られた成果を化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）や毒物及び劇物取締法（毒劇法）などの我が国の厚生労働行政に反映させることを目的とする。

本分担研究では、腸・肝を主たる対象とし、オルガノイドを含む再構成系を用いて、アウトカムと背景メカニズムの両面から *in vivo* と相関性のある *in vitro* 毒性評価系構築に向けた検討に取り組んでいる。

A. 研究目的

昨今、動物実験を用いないで全身毒性を評価するため、動物実験代替法の枠に捉われない概念として、New Approach Methodology (NAM) の開発が盛んである。NAM とは「動物実験の利用を避けた化学物質の有害性およびリスク評価における情報を用いるための技術、方法、アプローチ、またはその組み合わせ」と米国環境保護局（EPA）により定義されている。経済

協力開発機構（OECD）の試験法ガイドライン（TG）プログラム各国調整官作業部会（WNT）や2023年に新設された Advisory Group on Emerging Science in Chemicals Assessment（ESCA）では、NAMに用いる新興技術の公定化のためのバリデーションを加速するための基準や仕組みの改定を促している。

本研究班は、このような世界的な動向に呼応して NAM の開発を加速し、新興技術に

基づく評価法を公定化させるとともに、他国が提案する OECD 大型プロジェクトに関与し、得られた成果を化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）や毒物及び劇物取締法（毒劇法）などの我が国の厚生労働行政に反映させることを目的とする。

そのうち、本分担研究では、腸・肝を主たる対象とし、オルガノイドを含む再構成系を用いて、アウトカムと背景メカニズムの両面から *in vivo* と相関性のある *in vitro* 毒性評価系構築に向けた検討に取り組んでいる。

B. 研究方法

腸肝循環の animal MPS 構築のため、肝臓における検討として、初年度は、マウス肝オルガノイド培養の基礎データ取得に加え、生体マウスでの化学物質曝露時の CYP 誘導や毒性評価を行うこととした。

マウス肝臓由来オルガノイドは、5-10 週齢の雄性 C57BL/6J マウスより肝臓を単離し、コラゲナーゼ処理、セルストレーナーによる調製後、マトリゲル上にて三次元培養を行った。オルガノイド組織は得られたものの、増殖方法の安定化が求められた。得られたオルガノイドに対して、組織学的解析では、iPGell®を用いてオルガノイドをゼリー状に固め、パラフィン包埋ブロックを作製後、各種染色・観察を行った。遺伝子発現解析では、RNA 抽出、逆転写後、各種プライマーを

用いた *real-time PCR* を実施し、同系統マウス肝組織における遺伝子発現と比較検討を行った。また、肝線維化評価に対するオルガノイドの利用に関して検討した。オルガノイドに対し、TGFβ1 を 6, 30 ng/mL 24 時間の刺激を行い、肝線維化反応に対する各種解析を実施した。

8 週齢の雄性 C57BL/6J マウスを用いて、*in vivo* と比較するための基礎的データ取得を目的とした薬剤投与試験を実施した。腸管と肝臓で共通した CYP アイソフォーム（CYP3A4 および CYP2C9）の基質となるデキサメタゾンおよびジクロフェナクを被験物質として選定し、それぞれメチルセルロース懸濁液を作製し、デキサメタゾン（500 mg/kg）、ジクロフェナク（45 mg/kg）の用量で 5 日間反復経口投与後に解剖した。

小腸に関する検討として以下の 3 項目を実施した。1) マウス小腸オルガノイド培養系による検討、2) MPS デバイスへの搭載に向けた検討、3) マウスを用いた代謝酵素基質の投与による基礎的データの確認

小腸における検討として、本年度はマウスの腸管上皮オルガノイド（STEMCELL 社）を購入し、IntestiCult™ M Organoid Growth Medium (Mouse) を用いて STEMCELL 社より提示された定法に従いマトリゲルドームを形成し、オルガノイド培養に着手した。引き続き、

MPS デバイスに搭載し被験物質を曝露するための必須条件であるマトリゲルドーム培養下の腸管オルガノイドからの平面培養化の検討にも取り組んでいる。肝臓の取り組みと同様に、被験物質はニフェジピンおよびジクロフェナクを用いた。なお、ニフェジピンおよびジクロフェナクの曝露条件を検討するため、腸管上皮由来の株化細胞である Caco-2 細胞の培養において被験物質の細胞毒性を検討した。

(倫理面への配慮)

マウスの使用は最少匹数に留め、東京農業大学動物実験委員会より承認を受けた申請内容に則り実施し、使用動物数の低減に努めた。

C. 研究結果

得られたマウス肝オルガノイドは、管腔を形成し、Cytokeratin19 および SOX9、CD44 が陽性を示した。マウス正常肝組織では、Cytokeratin19 および SOX9 は胆管上皮細胞に染色され、CD44 は陽性細胞がほとんど見られなかった。遺伝子発現解析において、アルブミンおよび CYP3A11 は、マウス正常肝組織と比較してオルガノイドで非常に低値を示した。一方で、肝芽細胞マーカーである α -fetoprotein は肝組織とオルガノイドで同程度の発現を示した (図 1)。

オルガノイドへの TGF β 1 刺激では、TGF β 1 の刺激によって、細胞質の微細な

空胞および、核の変性壊死像が管腔内に認められた。SOX9, CD44, collagen type 1, fibronectin の遺伝子発現は、Control と比較して有意に増加した (図 2)。一方で、肝細胞および肝芽細胞マーカーであるアルブミンおよび α -fetoprotein は、Control と比較して著明に減少した (図 3)。

生体マウスを用いた薬剤経口投与における CYP 発現変動は、ヒトとの相同遺伝子として報告されている CYP サブタイプを中心に遺伝子発現変化を観察した。デキサメタゾン投与では、血清中 ALT 活性の増加、肝組織の空胞変性、肝臓における CYP3A11, CYP2A5, および CYP2C29 の遺伝子発現増加を認めた (図 4)。ジクロフェナク投与では、血清中 ALT 活性の増加傾向、肝組織の巣状壊死、CYP2C29 の遺伝子発現増加傾向を認めた (図 5)。

マウス腸管オルガノイドは、STEMCELL 社より提示されたマトリゲルドーム培養法により腸管由来組織は順調に増殖した。さらに、同法により培養された腸管オルガノイドを一定数集積し、平面培養化の検討を試みた。さらに、オルガノイド培養における細胞毒性を評価するための条件検討として Caco-2 細胞培養によるニフェジピンおよびジクロフェナクの細胞毒性を検討した。その結果、両化合物ともに顕著な細胞毒性は示さなかった (図 6)。この結果を受け、今後はマウス腸管オルガノイド由来の平面培養への被験物質の曝

露を進めていく。

生体マウスを用いた薬剤経口投与における CYP 発現変動は、肝臓における検討と同実験として実施した。ヒトとの相同遺伝子として CYP サブファミリーを中心に遺伝子発現変化を観察した。デキサメタゾン投与では、小腸における遺伝子発現において、CYP3A11 の増加並びに CYP2D9 の増加傾向を示し（図 7）、さらに、CYP3A4 の免疫組織科学染色において、マウス小腸上皮細胞の陽性像の増強を認めた（図 8）。ジクロフェナク投与によるマウス小腸の遺伝子発現解析では、CYP2D9 および CYP3A11 の増加ないし増加傾向、CYP2C29 の減少傾向を認めた（図 7）

D. 考察

増殖過程で得られた肝オルガノイドは、胆管および肝芽細胞マーカーが強く、アルブミンや CYP の発現が弱かった。今後、増殖の安定化およびオルガノイドの成熟化が課題とされた。今後は、CYP 活性を有する成熟肝培養細胞を用いて、被験物質投与の代謝について評価を進めるとともに、オルガノイドとの比較検討を行うことで、それぞれの適性について考察する予定である。

肝オルガノイドに TGFβ1 刺激を行うと、collagen や接着分子の遺伝子発現が増加したことより、細胞の分化や形質の転換が評価できる可能性が示唆された。よって、従来の平面培養や生体では得られない線維化メカニズムの評価系が構築できる可能性が示唆された。

生体マウスを用いた薬剤経口投与において、デキサメタゾンおよびジクロフェ

ナク投与後に CYP 発現が上昇するなどの明らかな変化を認め、基礎的データが取得できた。今後、薬物動態を *in vitro* と比較するうえでの対照サンプルとなり得るもの考えられた。また、CYP 発現変動に関しては、CYP サブタイプは必ずしもヒトと一致せず、相同遺伝子として報告されている CYP サブタイプを考慮する必要があると考えられた。

腸管オルガノイドの分担研究においては、十分なオルガノイドを取得し、平面培養化を安定化させるための手技を確立した。引き続き、被験物質としてニフェジピン並びにジクロフェナクを曝露して腸管上皮由来の CYP 発現に関する遺伝子発現解析を実施する。

生体マウスを用いた薬剤経口投与において、小腸においても、基質となる薬剤であるデキサメタゾン並びにジクロフェナクの投与による遺伝子発現並びに免疫組織科学染色における発現変動が見出された。この内容は、今後の小腸由来オルガノイド培養からの平面培養による曝露検討に反映させ得る結果を見出した。

E. 結論

腸肝循環の animal MPS 構築のため、マウスの肝臓ならびに小腸を由来とするオルガノイド培養を用いた基礎的データの蓄積に着手した。引き続き、肝臓および小腸オルガノイドに被験物質を曝露することによる CYP 誘導を含む初回通過効果の指標となる結果の蓄積を進め、MPS 系の構築や妥当性の証明に寄与する研究を進めていく。

F. 研究発表

F.1. 論文発表

該当なし

F.2 学会発表

煙山紀子，畠中理園，佐野心優，大橋清佳，前川竜也，中江大，美谷島克宏，マウス肝臓オルガノイドを用いた毒性評価系の開発に向けた検討，第41回日本毒性病理学会総会および学術集会（2025.1.30）

G. 知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む。）

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

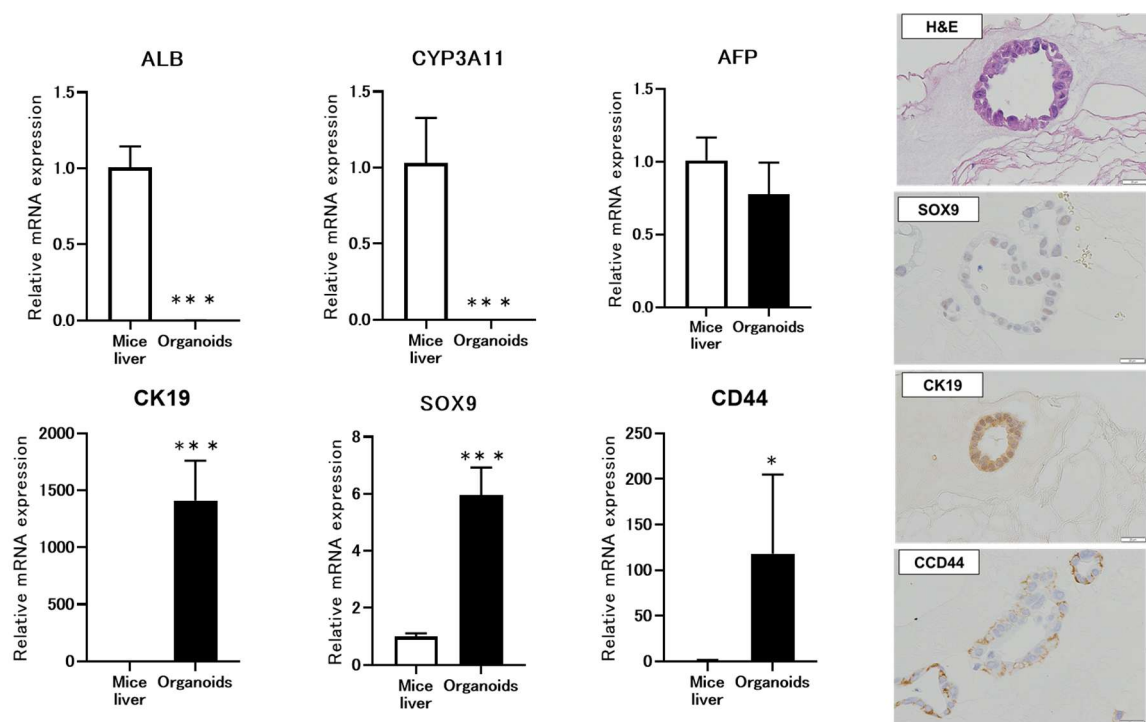


図1 マウス肝オルガノイド培養と生体との比較

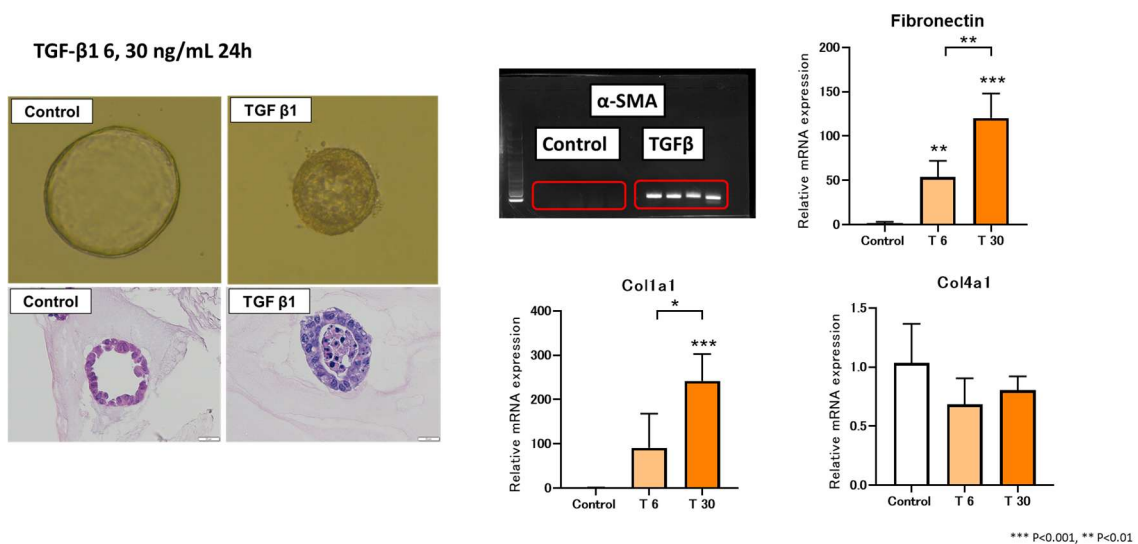


図2 肝オルガノイドTGF-β1刺激による形態変化と線維化関連遺伝子発現

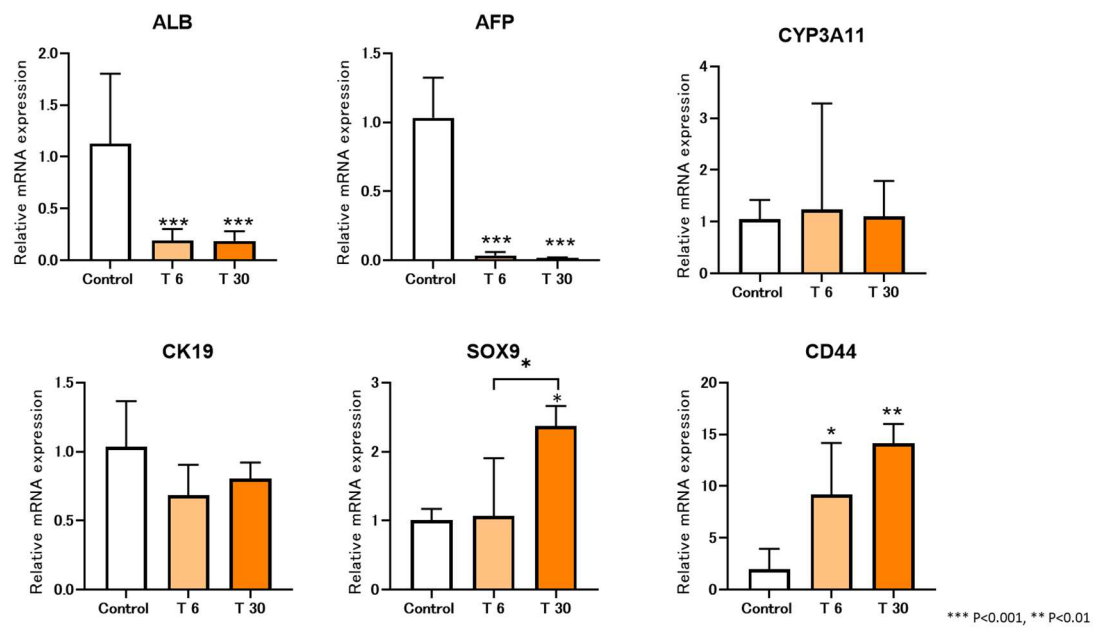


図3 肝オルガノイドTGF-β1刺激による肝細胞マーカーの変化

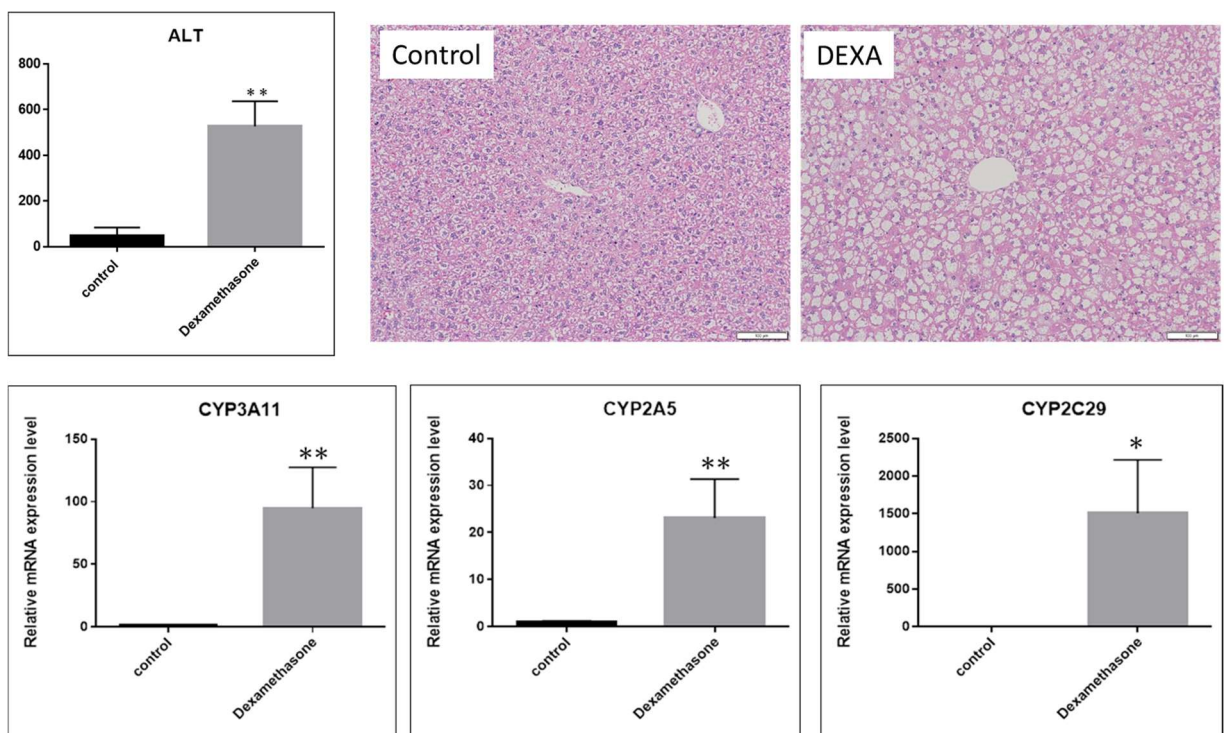


図4 生体マウスへのデキサメタゾン投与による肝組織への影響

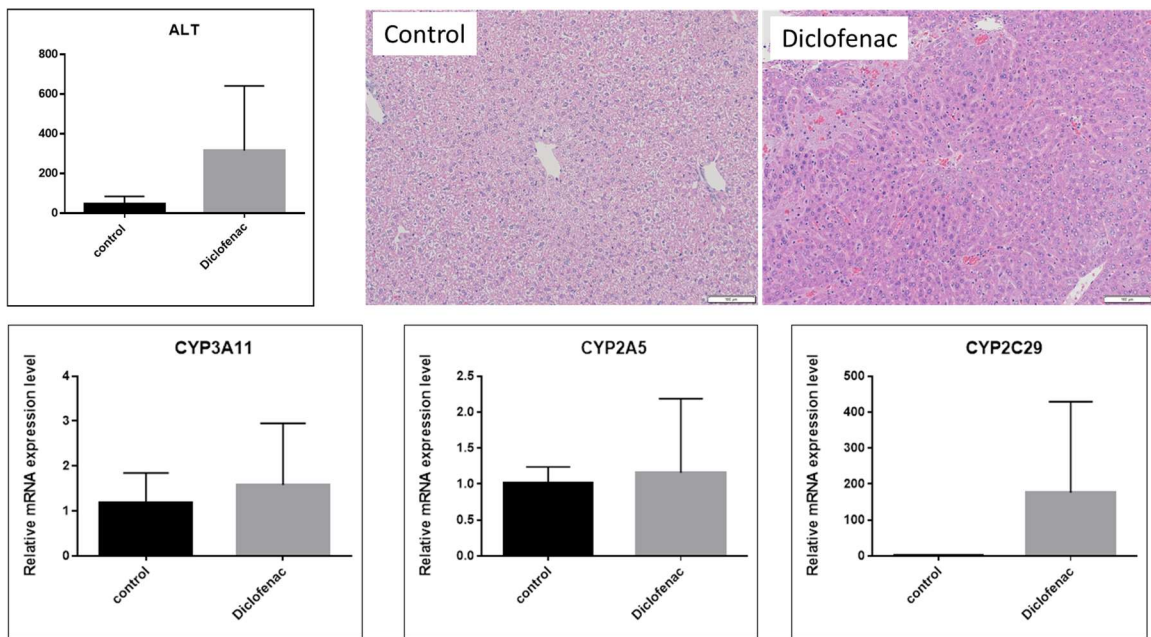


図5 生体マウスへのジクロフェナク投与による肝組織への影響

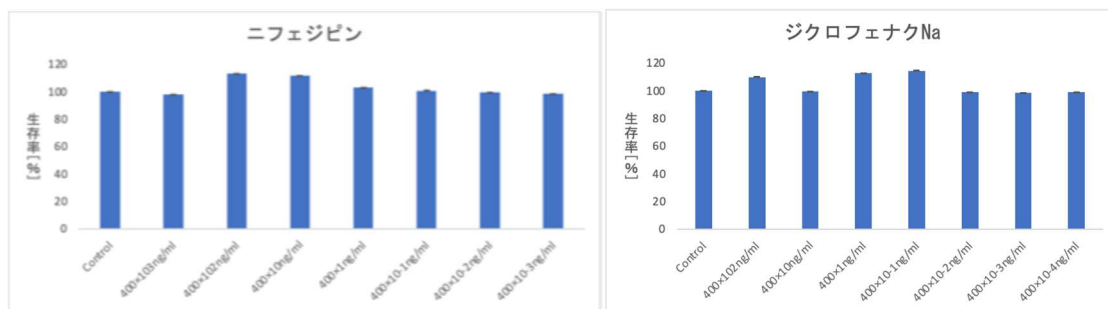


図6 Caco-2細胞による処理濃度検討

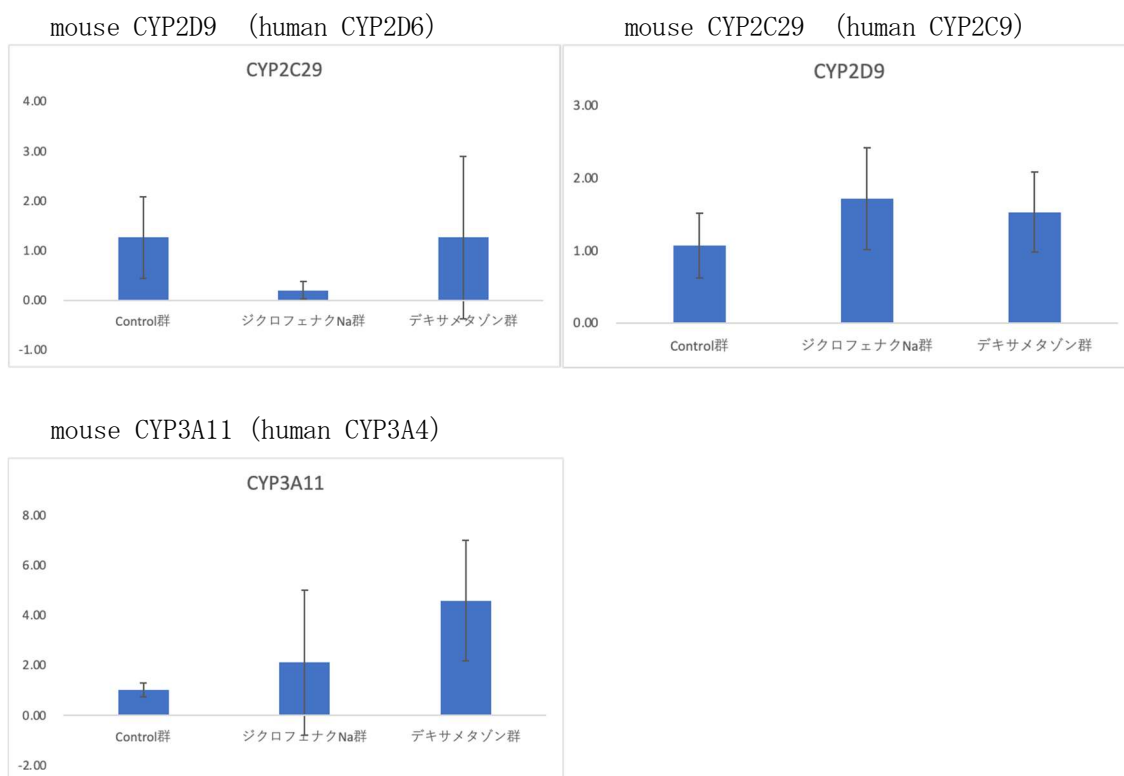


図7 マウス小腸における CYP の遺伝子発現解析 (PCR)

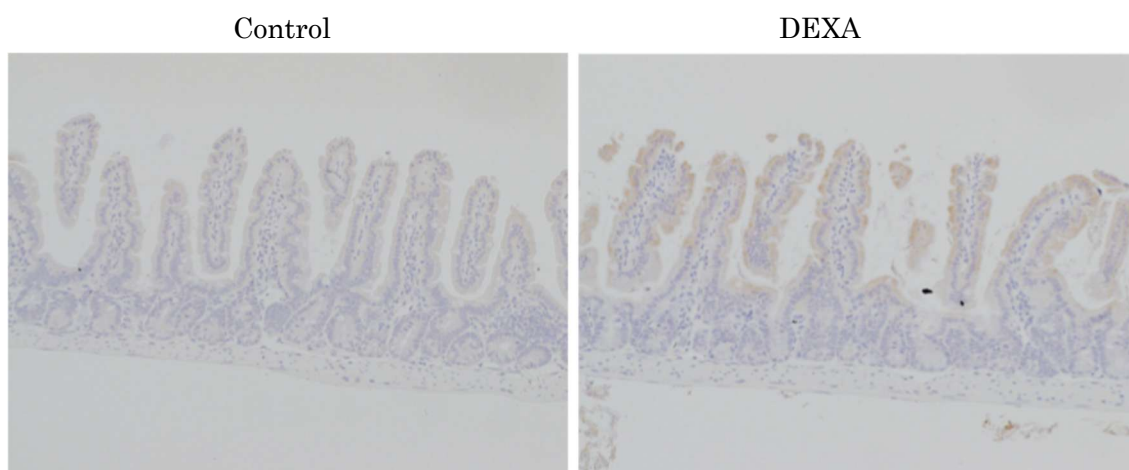


図8 デキサメタン投与による小腸上皮の CYP3A4 発現 (免疫組織化学染色)

国内外で開発されOECDで公定化されるNAMを活用した試験法の行政的な
受け入れに対応するための研究

令和6年度 分担研究報告書

発がん性試験におけるAOP、IATA及びTGの開発、及び実験データ支援

研究分担者 豊田武士

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 部長

研究要旨

本研究では、DNA 損傷マーカー（ γ -H2AX）の免疫組織化学的解析を用いた、腎発がん物質の早期検出手法の感度・特異度を検証することを目的とする。令和6年度は、本手法の特異度検証のため、腎臓を標的としない発がん物質7種および非発がん物質5種を28日間経口投与したラット腎臓サンプルを用いて、 γ -H2AX形成の免疫染色による定量解析を行った。その結果、検討した12物質はいずれも、ラット腎臓における γ -H2AX陽性率の増加を引き起こさないことが明らかとなり、本手法は高感度であるだけでなく、高い特異性を有することが示された。現在、腎凍結サンプルを用いたRNAシーケンスを実施し、 γ -H2AXと併用可能な新規バイオマーカーの探索を目指したデータ解析を行っている。

A. 研究目的

近年、化学物質の安全性評価の効率化・迅速化および実験動物福祉（3Rs）の観点から、長期がん原性試験をより短期間の試験で代替する手法の開発が求められている。我々はこれまでに、DNA 損傷マーカーである γ -H2AXが、化学物質の膀胱発がん性早期検出に有用な指標となり得ることを報告してきた。一方で、主要な毒性標的臓器である肝臓および腎臓への応用を検討する必要があると考えられる。これまでに腎臓を対象とした評価を種々の化学物質を用いて実施した結果、 γ -H2AX免疫染色は膀胱と同様、腎発がん物質の早期検出にも有用である可能性が示唆された。

そこで本研究では、腎発がん物質早期検出における γ -H2AX形成の感度および特

異度を検証することを目的とする。具体的には、新規の被験物質を用いた28日間反復経口投与試験を実施し、腎臓における γ -H2AX形成の定量解析を行う。また、過去に実施した28日間反復投与試験で得られた腎臓についても同様に検討し、 γ -H2AX形成を指標とした腎発がん物質検出法の妥当性を評価する。

B. 研究方法

令和6年度は、 γ -H2AX免疫染色による腎発がん物質早期検出法の特異度を検証するため、腎臓を標的としない発がん物質7種：5-Nitro-*o*-toluidine（PNOT）、3,3'-Dichlorobenzidine 二塩酸塩（DCB）、4-Aminoazobenzene 塩酸塩（AAB）、4,4'-Methylenedianiline（MDA）、4,4'-

Methylenebis(2-chloroaniline) (MOCA)、Chlorobenzene (CB) および Furan、ならびに非発がん物質 5 種: Anthranilic acid (o-AA)、Ethionamide (ETP)、2,6-Diaminotoluene (2,6-DAT)、6-Mercaptopurine 一水和物 (6-MP) および 5-Fluorouracil (5-FU) を 28 日間反復経口投与した雄ラット (開始時 6 週齢、F344 または SD 系) の腎臓を用いた解析を実施した。各被験物質の投与濃度には、報告されている短期試験における最大耐量を用いた。

腎臓の病理組織標本を用いた γ -H2AX 免疫染色を実施し、 γ -H2AX 陽性細胞の定量解析を行った。右腎横断面において皮質 (COR) および髄質外層外帯 (OSOM) の特定部位を顕微鏡下 ($\times 400$) でそれぞれ 4 か所撮影し、尿細管上皮細胞の総数ならびに γ -H2AX 陽性細胞をカウントすることで陽性細胞率を測定した。

また、 γ -H2AX と併用可能な新規バイオマーカー探索のため、ラット腎凍結材料を用いた RNA シークエンス (RNA-Seq) 解析を実施した。対照群、腎発がん物質 3 種: Chlorothalonil (CTN)、Phenolphthalein (Phph) および Tris(2-chloroethyl) phosphate (TCEP)、ならびに腎傷害性非発がん物質である Carboxin (CBX) を 28 日間経口投与したラットの腎凍結サンプル (各群 $n=3$ または 4) から Total RNA を抽出し、DNBSEQ による RNA-Seq 解析を行った。

(倫理面への配慮)

動物の数は最小限にとどめ、実験は国立医薬品食品衛生研究所の実験動物取扱い規定に基づき、動物の苦痛を最小限とするよう配慮して行った。

C. 研究結果

腎尿細管上皮細胞における γ -H2AX 形

成について、免疫組織化学的解析を行った結果、腎臓を標的としない発がん物質 7 種および非発がん物質 5 種はいずれも、 γ -H2AX 陽性率の増加を引き起こさないことが明らかとなった (図 1)。

現在、腎凍結サンプルを用いた RNA-Seq 解析について、 γ -H2AX と併用可能な新規バイオマーカーの探索を目指したデータ解析を実施中である。

D. 考察

これまでの検討において、ラットへの 28 日間反復経口投与後の腎尿細管上皮細胞における γ -H2AX 陽性率は、腎発がん物質 26 物質中 22 種で有意に増加し、高い感度 (84.6%) を示すことが明らかとなっている。令和 6 年度は本手法の特異度を検討するため、腎臓を標的としない発がん物質および非発がん物質、計 12 種を投与したラット腎臓を用いて、 γ -H2AX 形成の免疫組織化学的解析を行った。その結果、検討済みの 9 物質と合わせた計 21 物質のうち 20 種が陰性となり、高い特異度 (95.2%) を示すことが確認された。以上の結果から、 γ -H2AX 免疫染色は腎発がん物質の早期検出に有用であることが示唆された。本手法は、OECD テストガイドライン 407 (齧歯類における 28 日間反復経口投与毒性試験) での実施が容易であることから、化学物質の安全性評価の効率化・迅速化に寄与すると考えられ、今後 OECD への提案について検討を進める予定である。

一方で、 γ -H2AX 免疫染色に偽陰性を示す腎発がん物質も認められていることから、これらを検出し得る新規バイオマーカーの探索を目的とした RNA-Seq 解析を現在進めている。 γ -H2AX 陽性率において偽陰性を示した腎発がん物質として CTN・TCEP、増加の程度が比較的低い腎発がん

物質として Phph、および非発がん性の腎傷害物質である CBX の 4 物質について腎臓における遺伝子発現動態を解析し、 γ -H2AX と併用・補完が可能なバイオマーカー候補の確立を目指す。

E. 結論

ラットを用いた 28 日間反復経口投与毒性試験において、腎臓を用いた γ -H2AX 免疫染色を実施することで、腎発がん物質を高い感度・特異度で検出し得ることが示された。

F. 研究発表

F.1. 論文発表

1. Akane H, Toyoda T, Matsushita K, Uneyama M, Morikawa T, Kosaka T, Tajima H, Aoyama H, Ogawa K. Comparisons of the sensitivity of histopathological and immunohistochemical analyses with blood hormone levels for early detection of antithyroid effects in rats treated with promoters of thyroid hormone metabolism. *Toxicol Pathol* (in press)
2. Yoshida A, Hashimoto Y, Akane H, Matsuyama S, Toyoda T, Ogawa K, Saito Y, Kikura-Hanajiri R, Arakawa N. Analysis of stratifin expression and proteome variation in a rat model of acute lung injury. *J Proteome Res* 24, 1941-1955, 2025
3. Takimoto N, Ishii Y, Mitsumoto T, Takasu S, Namiki M, Toyoda T, Shibutani M, Ogawa K. Involvement of nuclear atrophy of binucleated hepatocytes in the large micronucleus formation induced by rat hepatocarcinogen acetamide. *Toxicol Appl Pharmacol* 496, 117243, 2025
4. Uneyama M, Toyoda T, Doi Y, Matsushita K, Akane H, Morikawa T, Ogawa K. A 13-week

subchronic toxicity study of linalool oxide in Crl:CD(SD) rats. *J Toxicol Pathol* 37, 151-161, 2024

F.2. 学会発表

1. Toyoda T, Matsushita K, Akane H, Uneyama M, Morikawa T, Ogawa K. Short-term evaluation of mucosal toxicity and carcinogenicity of aromatic amines in the rat urinary bladder by histopathology and γ -H2AX immunostaining. 64th Annual Meeting of the Society of Toxicology (2025.3.17 Orlando)
2. 豊田武士、赤根弘敏、小川久美子. γ -H2AX 免疫染色を指標としたラット腎発がん物質の早期検出. 第 83 回日本癌学会学術総会 (2024.9.21 福岡)
3. 豊田武士、赤根弘敏、高須伸二、石井雄二、松下幸平、畝山瑞穂、森川朋美、小坂忠司、田島均、青山博昭、小川久美子. ラット 28 日間反復投与毒性試験における病理組織学的/免疫組織化学的解析による抗甲状腺物質の早期検出および機序推定. 第 51 回日本毒性学会学術年会 (2024.7.4 福岡)
4. 赤木純一、水田保子、畝山瑞穂、赤根弘敏、松下幸平、豊田武士、小川久美子. ラットへの経口摂取によりパイエル板に取り込まれた二酸化チタンナノ粒子の毒性影響の検討. 日本薬学会第 145 年会 (2025.3.29 福岡)
5. 吉田彩夏、橋本由弥、赤根弘敏、豊田武士、小川久美子、齋藤嘉朗、花尻(木倉)瑠理、荒川憲昭. オレイン酸誘発急性肺損傷ラットモデルにおけるストラテフィン発現とプロテオームの変動. 日本薬学会第 145 年会 (2025.3.27 福岡)
6. 畝山瑞穂、チェンバーズ ジェームズ、赤根弘敏、豊田武士、内田和幸. IL-1 レセ

- プターアンタゴニスト KO マウスに生じた滑膜肉腫の 1 例. 第 12 回日本獣医病理学専門家協会学術集会 (2025.3.28 盛岡)
7. Ogawa K, Akane H, Takasu S, Gi M, Fujioka M, Ishii Y, Uneyama M, Morikawa T, Wanibuchi H, Tsuda H, Toyoda T. Comparison of the intra-tracheal intrapulmonary spraying (TIPS) and the systemic inhalation methods in rats for the classification of hazardous chemicals based on the GHS acute inhalation toxicity. 64th Annual Meeting of the Society of Toxicology (2025.3.19 Orlando)
 8. Yamagami Y, Ishii Y, Nakamura K, Takasu S, Toyoda T, Murakami T, Shibutani M, Ogawa K: Investigation of the involvement of chromothripsis in the acetamide-induced hepatocarcinogenesis in rats. 64th Annual Meeting of the Society of Toxicology (2025.3.18 Orlando)
 9. Ishii Y, Nakamura K, Yamagami Y, Takasu S, Nohmi T, Toyoda T, Shibutani M, Ogawa K. Investigations of the mechanism underlying acetamide-induced hepatocarcinogenesis in rat. 64th Annual Meeting of the Society of Toxicology (2025.3.18 Orlando)
 10. Akane H, Toyoda T, Uneyama M, Morikawa T, Kosaka T, Aoyama H, Ogawa K. Effective method for early detection and mechanism estimation of antithyroid chemicals by histopathological and immunohistochemical analyses in rats. 64th Annual Meeting of the Society of Toxicology (2025.3.18 Orlando)
 11. Akagi J, Mizuta Y, Uneyama M, Akane H, Matsushita K, Toyoda T, Ogawa K. Study of the biological effects of titanium dioxide with three different crystallite sizes following repeated oral administration in F344 rats. 64th Annual Meeting of the Society of Toxicology (2025.3.18 Orlando)
 12. 高須伸二、赤根弘敏、石井雄二、豊田武士、津田洋幸、小川久美子. 経気管肺内噴霧投与 (TIPS) 法による急性毒性試験における投与液量および投与濃度の影響. 第 41 回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2025.1.31 三島)
 13. 赤根弘敏、高須伸二、魏民、藤岡正喜、豊田武士、石井雄二、畝山瑞穂、森川朋美、津田洋幸、小川久美子. 吸入による毒劇物の判定における経気管肺内噴霧投与 (TIPS) 法の有用性の検討. 第 41 回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2025.1.31 三島)
 14. 畝山瑞穂、豊田武士、赤木純一、赤根弘敏、森川朋美、小川久美子. 発がん機序に基づく免疫染色を用いたラット肝発がん物質の早期検出法の検討. 第 41 回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2025.1.31 三島)
 15. 石井雄二、相馬明玲、山上洋平、笠松建吾、高須伸二、豊田武士、小川久美子. 低分子アミド化合物によるラット肝細胞質内封入体形成の検討. 第 41 回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2025.1.30 三島)
 16. 山上洋平、石井雄二、高須伸二、相馬明玲、笠松建吾、豊田武士、村上智亮、小川久美子. アセトアミド誘発の大型小核による chromothripsis の発生機構. 第 41 回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2025.1.30 三島)
 17. 赤木純一、水田保子、畝山瑞穂、赤根弘敏、松下幸平、豊田武士、小川久美子. F344 ラットへの反復経口投与によりパイエル板に沈着した二酸化チタン粒子による生体影響の検討. 第 41 回日本毒

- 性病理学会総会及び学術集会（2025.1.30 三島）
18. 高須伸二、石井雄二、相馬明玲、笠松建吾、山上洋平、豊田武士、小川久美子. *gpt delta* ラットを用いた 6-methoxyquinoline の *in vivo* 変異原性の評価. 日本環境変異原ゲノム学会第 53 回大会（2024.12.8 岡山）
 19. 山上洋平、石井雄二、笠松建吾、高須伸二、相馬明玲、豊田武士、村上智亮、小川久美子. ラット初代肝細胞を用いた acetamide が誘発する大型小核の形成機序に関する研究. 日本環境変異原ゲノム学会第 53 回大会（2024.12.7 岡山）
 20. 赤木純一、水田保子、畝山瑞穂、赤根弘敏、松下幸平、豊田武士、小川久美子. ラットを用いた二酸化チタンナノ粒子の反復経口曝露による生体影響の検討. 第 47 回日本分子生物学会年会（2024.11.29 福岡）
 21. 吉田彩夏、橋本由弥、赤根弘敏、豊田武士、小川久美子、齋藤嘉朗、花尻(木倉)瑠理、荒川憲昭. 急性肺損傷ラットモデルによる新規びまん性肺胞傷害マーカー-SFN の発現機序解析. 第 10 回次世代を担う若手のためのレギュラトリーサイエンスフォーラム（2024.9.21 草津）
 22. 赤根弘敏、高須伸二、石井雄二、小川久美子、豊田武士. 病理組織学的及び免疫組織化学的解析を用いた抗甲状腺物質の早期検出. 第 83 回日本癌学会学術総会（2024.9.21 福岡）
 23. 久下恒明、杜婉瑩、豊田武士、大本安一、安川佳美、大津洋、吉田寛、竹島秀幸、牛島俊和、野村幸世. 胃癌切除後も門脈血流を介した IL-6 の刺激により肝で TFF3 が高発現するメカニズム. 第 83 回日本癌学会学術総会（2024.9.20 福岡）
 24. 赤木純一、水田保子、畝山瑞穂、赤根弘敏、松下幸平、豊田武士、小川久美子. さまざまな結晶子径の二酸化チタン粒子のラットへの 90 日間反復経口投与による生体影響と蓄積性の検討. 第 37 回発癌病理研究会（2024.8.22 米子）
 25. 赤根弘敏、高須伸二、魏民、藤岡正喜、豊田武士、石井雄二、畝山瑞穂、森川朋美、津田洋幸、小川久美子. ラットを用いた化学物質の吸入による毒劇物の判定における経気管肺内噴霧投与（TIPS）法と全身吸入暴露法の比較. 第 51 回日本毒性学会学術年会（2024.7.5 福岡）
 26. 畝山瑞穂、豊田武士、赤木純一、赤根弘敏、森川朋美、小川久美子. γ -H2AX と幹細胞マーカーの免疫染色を用いたラット肝発がん物質早期検出法の検討. 第 51 回日本毒性学会学術年会（2024.7.3 福岡）
 27. 吉田彩夏、橋本由弥、赤根弘敏、豊田武士、小川久美子、齋藤嘉朗、花尻(木倉)瑠理、荒川憲昭. 急性肺損傷ラットモデルを用いた新規間質性肺炎バイオマーカーの発現機序解析. 日本プロテオーム学会 2024（2024.6.28 青森）
 28. 森川朋美、豊田武士、松下幸平、赤根弘敏、畝山瑞穂、小川久美子. ラットを用いた L-ラムノースの 90 日間亜慢性反復経口投与毒性試験. 日本食品化学学会第 30 回総会・学術大会（2024.5.24 東京）
- G. 知的財産権の出願・登録状況**
1. 特許取得
該当なし
 2. 実用新案登録
該当なし
 3. その他
該当なし

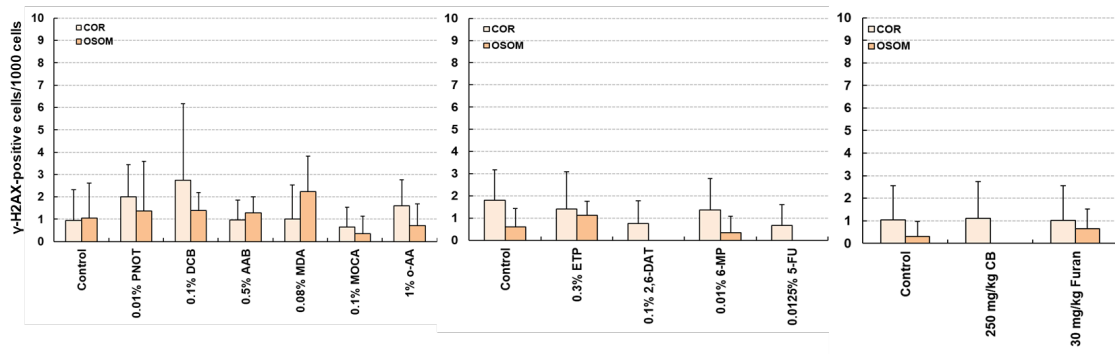


図 1. 12 種の非腎発がん物質投与群における γ -H2AX 陽性率。COR：皮質、OSOM：髄質外層外帯。

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）

国内外で開発されOECDで公定化されるNAMを活用した試験法の行政的な 受け入れに対応するための研究

令和6年度分担研究報告書

In vitro 腎毒性評価の TG 開発及び実験データ支援

研究分担者 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 室長

研究要旨

腎臓の尿細管上皮細胞はその生理学的な特徴から化学物質による毒性影響を受けやすい細胞である。本研究では腎毒性の AOP 作製に資する情報を得ることを目的とし、尿細管上皮細胞を直接的に障害することが知られるコリスチンの毒性メカニズムについて検討した。

6 週齢の雄性 SD ラットに 0、15 及び 30 mg/kg のコリスチンを 28 日間反復皮下投与し、腎臓について各種解析を実施した。

病理解析において 15 及び 30 mg/kg 群ともに近位尿細管上皮の空胞化及び単細胞壊死がみられた。空胞化した尿細管は再生マーカーである Kim-1 に陽性を示し、単細胞壊死の一部はアポトーシスマーカーである c-caspase 3 に陽性を示した。30 mg/kg 群の空胞化/再生尿細管をレーザーマイクロダイセクションにより採取してマイクロアレイ及びパスウェイ解析を行った結果、空胞化/再生尿細管では IL-34 等の炎症性サイトカインを含むマクロファージの活性化に関わるパスウェイの活性化が示唆された。また *in situ* hybridization 法において再生/空胞化尿細管における Il-34 mRNA の発現亢進が認められ、これらの尿細管周囲には CD68 陽性のマクロファージが認められた。

本研究結果から、コリスチン誘発腎毒性のメカニズムには障害を受けた尿細管によるサイトカイン産生を介した二次的な障害も関与する可能性が示唆された。本結果は腎毒性の AOP 作製に資する有用な情報となることが期待される。

A. 研究目的

腎臓は化学物質による障害を受けやすい臓器であり、特に尿細管上皮細胞はその生理学的な特徴から腎毒性の主要な標的となる。本研究では腎毒性の AOP 作製に資する情報を得ることを目的とし、尿細管を標的とした腎毒性物質であるコリスチンの毒性メカニズムについて検討した。

B. 研究方法

6 週齢の雄性 SD ラットを 3 群に配し

(n=5)、媒体である生理食塩水もしくはコリスチンを 15 及び 30 mg/kg 体重 (5 mL/kg 体重) の用量で 1 日 1 回、28 日間反復皮下投与した。体重測定を週に 1 回行い、最新体重に基づいて投与容量を算出した。最終投与 1 日後にイソフルラン深麻酔下において腹大動脈から採血した後、放血により安楽死させて剖検を行った。剖検時に腎臓を摘出して重量を測定した後、一部を 10% 中性緩衝ホルマリンにて固定し、残りの組織

は液体窒素にて瞬間凍結もしくは OCT コンパウンドにて凍結ブロックを作製した後、-80℃にて保存した。得られた血液サンプルを常温下で遠心（3000 rpm、15 分）して血清を分離し、尿素窒素（BUN）及びクレアチニン（sCre）の値を測定した。また、10%中性緩衝ホルマリンで固定した腎臓組織を用いて定法に従いパラフィン包埋、薄切し、HE 染色を施して病理組織学的検索を行った。さらに免疫組織学的解析のため、組織標本を抗原賦活化処置としてクエン酸バッファ（pH6.0）に浸漬してオートクレーブ処置し（121℃、15 分）、3% H₂O₂/メタノールにて内因性ペルオキシダーゼを除去した。引き続き、非特異反応を除去するため 10%正常ヤギ血清を用いてブロッキング処置を施した後、抗 kidney injury molecule-1（Kim-1）抗体、c-caspase 3 抗体及び抗 CD68 抗体を 4℃にて一晩インキュベートし、二次抗体（ポリマー法：ヒストファインシンプルステイン）を室温下で 30 分インキュベートした。ジアミノベンジジンにて反応を可視化し、ヘマトキシリンにより核染色を行った。単位面積当たりの Kim-1 及び c-caspase 陽性細胞数並びに CD68 陽性面積について画像解析ソフト（HALO）を用いて算出した。また Kim-1 陽性尿細管及び CD68 陽性マクロファージの局在を検討するため、Kim-1 及び CD68 の二重蛍光免疫染色を行った。さらに interleukin-34（IL-34） mRNA の局在を *in situ* hybridization 法（RNAscope™）により解析した。

対照群及び 30 mg/kg 群の凍結ブロックを薄切（約 15 µm）し、on ice で迅速 HE 染色を施した。対照群の正常尿細管及び 30 mg/kg の空胞化/再生尿細管をレーザーマ

イクロダイセクションにより採取し、マイクロアレイにより遺伝子発現を網羅的に解析した。正常尿細管と比較して空胞化/再生尿細管において発現の変動していた遺伝子群を抽出し、Ingenuity® Pathway Analysis によるパスウェイ解析を行った。また、瞬間凍結組織から tRNA を抽出し、合成した cDNA を用いて定量 PCR 法により Kim-1 及び IL-34 の遺伝子発現を検索した。

統計学的解析として、体重、腎重量、血清生化学的検査、画像解析及び遺伝子発現解析のデータについて一元配置分散分析（ANOVA）を実施した後に Dunnett 法による多重検定を行った。有意水準は 0.05 に設定した。

（倫理面への配慮）

動物の数は最小限にとどめ、実験は国立医薬品食品衛生研究所の実験動物取扱い規定に基づき、動物の苦痛を最小限とするよう配慮して行った。

C. 研究結果

体重測定では、15 mg/kg 群において 1、3 及び 4 週に、30 mg/kg 群においては 1 から 4 週にかけて有意な体重の低値が認められた（図 1A）。腎臓の重量測定では、15 mg/kg 群では絶対重量の有意な低値が認められ、30 mg/kg 群においては絶対重量の有意な低値及び相対重量の有意な高値がみられた（図 1B）。血清生化学的検査では、15 及び 30 mg/kg 群において BUN 及び sCre が有意な高値を示した（図 1C）。病理解析では 15 及び 30 mg/kg 群ともに近位尿細管上皮の空胞化及び単細胞壊死がみられた（図 2A）。空胞化した尿細管の一部は核密度が高く、再生尿細管のマーカーである Kim-1 に陽性を示した（図 2B）。また単細

胞壊死の一部はアポトーシスマーカーである c-caspase 3 に陽性を示した (図 2C)。マイクロアレイにおいて、正常尿細管と比較して空胞化/再生尿細管では 461 および 497 個の遺伝子の発現がそれぞれ上昇および減少していた (図 3A)。パスウェイ解析では空胞化/再生尿細管では IL-34 等の炎症性サイトカインを含むマクロファージの遊走や活性化に関わるパスウェイの活性化が認められた (図 3B)。また *in situ* hybridization 法において再生/空胞化尿細管における IL-34 mRNA の発現が亢進していることが示され、さらにこれらの尿細管周囲には CD68 陽性のマクロファージが多く認められた (図 4)。

D. 考察

コリスチンは近位尿細管を直接的に障害することが知られているものの、その腎毒性の詳細なメカニズムは不明である。本研究においてコリスチンにより障害を受けた尿細管ではマクロファージの活性化に関わる炎症性サイトカインの発現が亢進しており、それらの尿細管周囲ではマクロファージの浸潤が認められた。よって、コリスチン誘発腎毒性のメカニズムには直接的な近位尿細管への障害に加え、障害を受けた尿細管によるサイトカイン産生を介した二次的な障害も関与することが示唆された。IL-34 は腎虚血再灌流処置による腎障害モデルマウスの尿細管においても発現し、腎障害を増悪させることが報告されている。よって、障害を受けた尿細管による IL-34 産生を介した二次的な障害は、一次的な障害の原因やメカニズムに関わらず腎障害に共通した現象である可能性が考えられた。

E. 結論

コリスチンの腎毒性メカニズムには一次的に障害を受けた尿細管から産生される炎症性サイトカインによる二次的な障害が関与していることが示唆された。本結果は腎毒性の AOP 作製に資する有用な情報となることが期待され、引き続き実験データを蓄積する。

F. 研究発表

F.1. 論文発表

該当なし

F.2 学会発表

1. 松下幸平、豊田武士、赤木純一、水田保子、小川久美子. コリスチン誘発腎毒性のメカニズム解明. 第 41 回日本毒性病理学会 (2025.1.31)

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

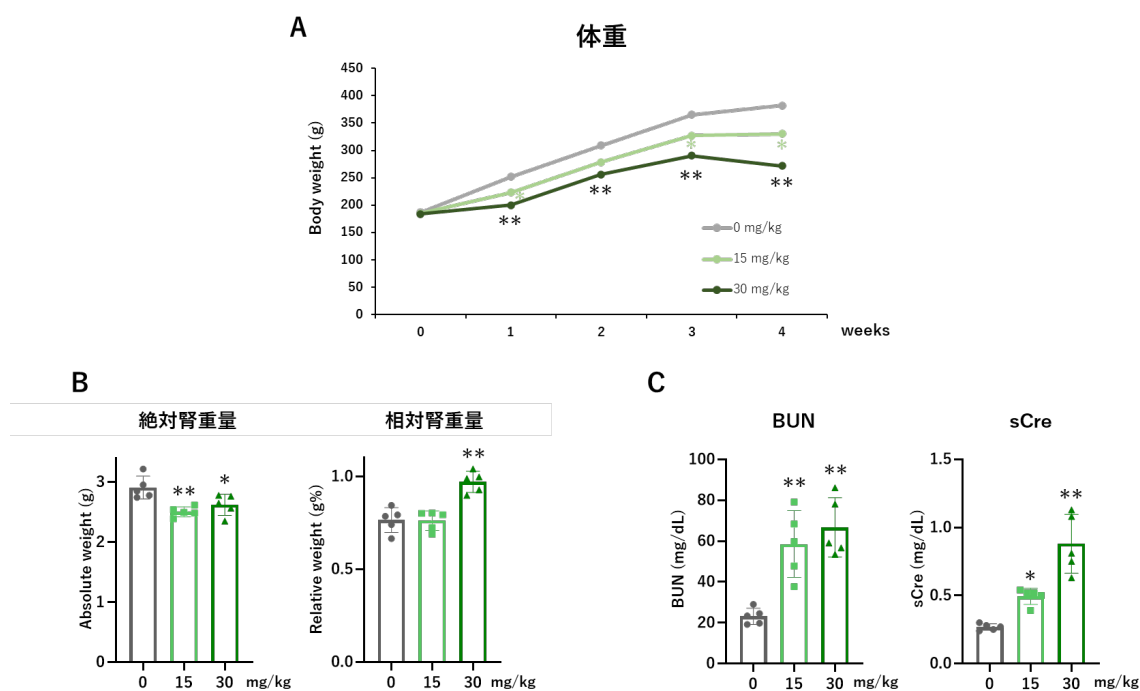


図1. (A) 体重の推移、(B) 腎重量、(C) 血清生化学的検査。*, **: $p < 0.05, 0.01$ vs. 0 mg/kg, respectively.

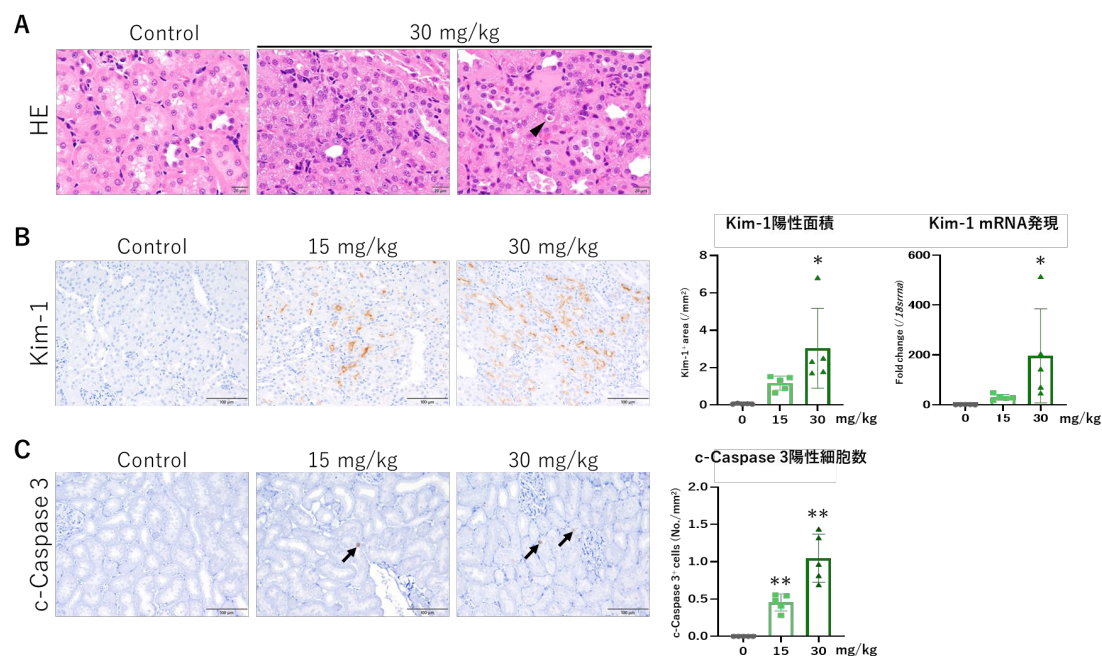


図2. (A) HE染色、(B) 免疫染色及び定量PCR法によるKim-1発現解析、(C) 免疫染色によるc-Caspase 3陽性細胞の検出。*, **: $p < 0.05, 0.01$ vs. 0 mg/kg, respectively. 矢頭：単細胞壊死。矢印：c-Caspase 3陽性細胞。

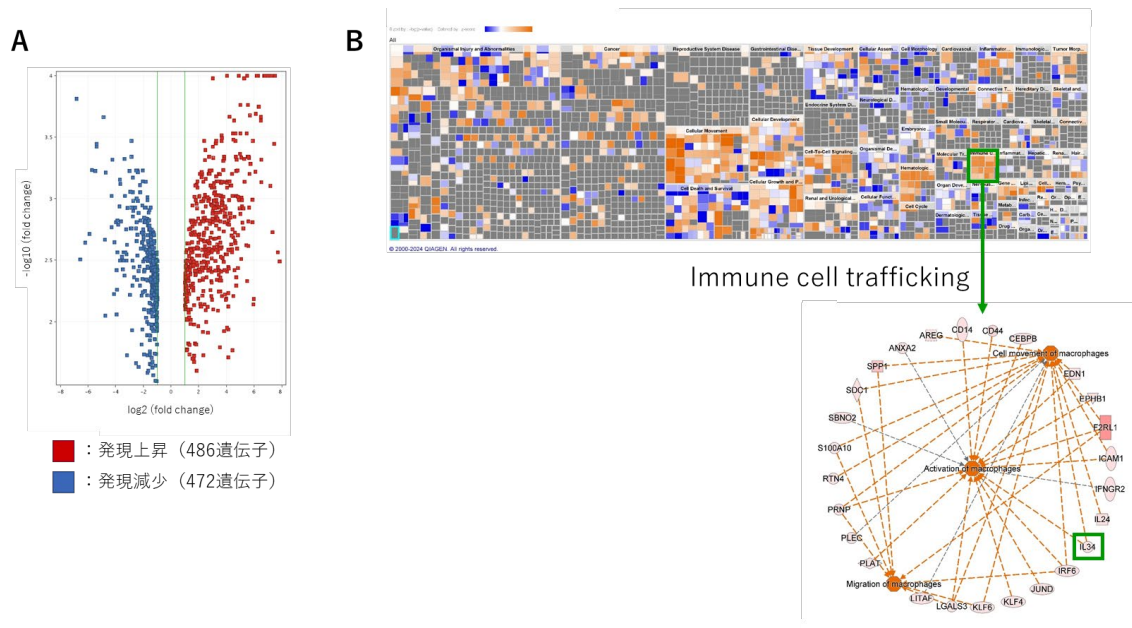


図 3. (A) マイクロアレイにおける Volcano plot、(B) パスウェイ解析。

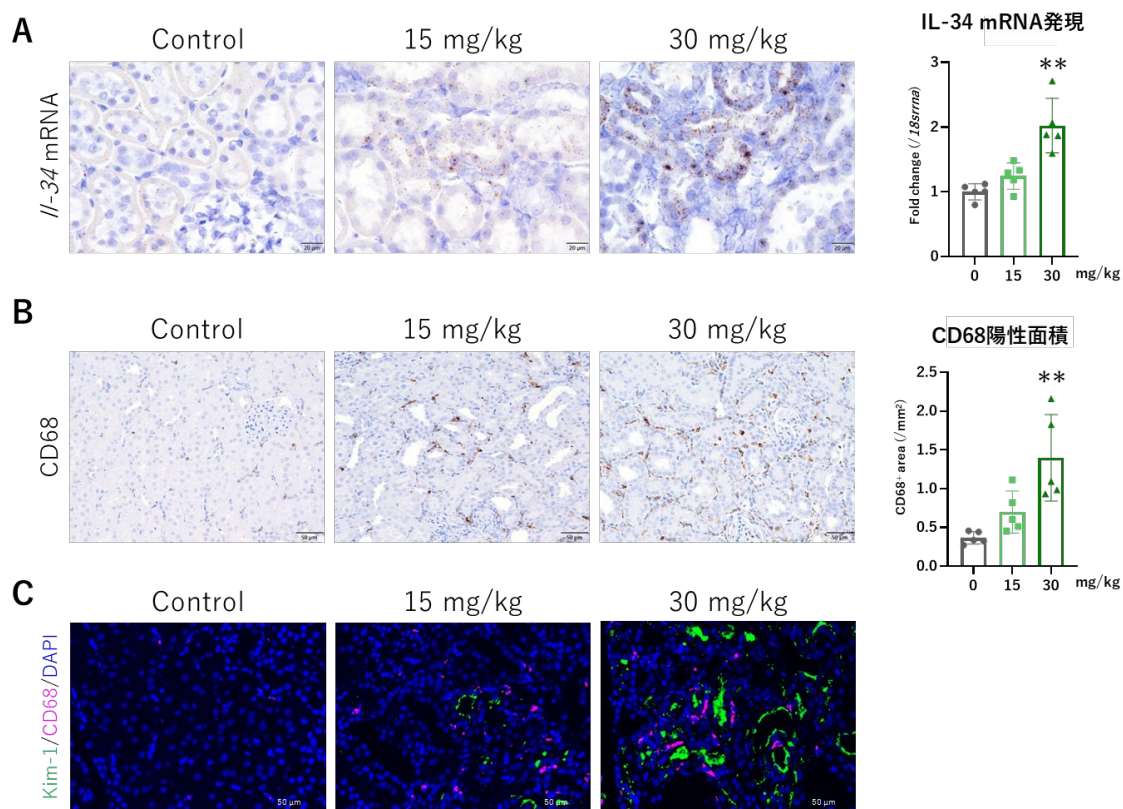


図 4. (A) *in situ* hybridization 法および定量 PCR 法による IL-34 発現解析、(B) CD68 発現解析、(C) Kim-1 陽性尿細管及び CD68 陽性マクロファージの局在解析。**: $p < 0.01$ vs. 0 mg/kg.

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）

国内外で開発されOECDで公定化されるNAMを活用した試験法の行政的な 受け入れに対応するための研究

令和6年度分担研究報告書

化学物質曝露によって誘発される発達神経毒性に関する研究

研究分担者 齊藤 洋克

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 毒性部 主任研究官

研究要旨

昨今、動物実験を用いないで全身毒性を評価するため、動物実験代替法の枠に捉われない概念として、New Approach Methodology (NAM) の開発が盛んである。本研究班は、このような世界的な動向に呼応して NAM の開発を加速し、新興技術に基づく評価法を公定化させるとともに、他国が提案する OECD 大型プロジェクトに関与し、得られた成果を化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）や毒物及び劇物取締法（毒劇法）などの我が国の厚生労働行政に反映させることを目的とする。個体の発生・発達期は神経シグナルの厳密な制御の下、脳の神経回路網が形成される重要な時期であり、この時期の化学物質の曝露は、正常な脳の発達を妨げ、遅発的かつ長期的な影響をもたらすおそれがある。化学物質がヒトを含む哺乳類の神経系に及ぼす潜在的な影響に関しては、新たな知見が蓄積、更新されているものの、脳高次機能への影響を議論するための情報は十分ではない。本分担研究においては、発生・発達期のマウスに作用機序の異なる被験物質を投与し、脳高次機能への影響として生じる共通のイベント、あるいはその影響の差異を検討することで、発達神経毒性に係る実験データを収集する。今年度は、免疫組織化学による条件検討を行い、中枢神経系における各細胞の主要な分化マーカーにおける、その発現および局在を安定して検出できることを確認した。また、モデル化学物質としてイミダクロプリドを選択し、幼若期および成熟期マウスへの投与実験を行った。被験物質の投与後、個体の行動に及ぼす影響を検出するため、オープンフィールド試験、明暗往来試験、条件付け学習記憶試験、プレパルス驚愕反応抑制試験による行動解析を行った結果、幼若期投与群において、多動的傾向、不安の亢進、記憶異常等の特徴的な行動逸脱が観察された。今後、複数の候補被験物質を用いて同様の解析を行い、行動試験結果および、当該物質のニューロン、グリア細胞等への影響の比較をすすめる。

A. 研究目的

本研究班は、NAM の開発を加速し、新興技術に基づく評価法を公定化させるとともに、他国が提案する OECD 大型プロジェクトに関与し、得られた成果を化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審

法）や毒物及び劇物取締法（毒劇法）などの我が国の厚生労働行政に反映させることを目的とする。個体の発生・発達期は神経シグナルの厳密な制御の下、脳の神経回路網が形成される重要な時期であり、この時期の化学物質の曝露は、正常な脳の発達を

妨げ、遅発的かつ長期的な影響をもたらすおそれがある。化学物質の発達神経毒性に関しては、新たな知見が蓄積、更新されているものの、脳高次機能への影響を評価、議論するための情報は未だ不足している。本分担研究では、化学物質曝露によって誘発される発達神経毒性に関する研究として、発生-発達期のマウスに作用機序の異なる被験物質を投与し、脳高次機能への影響として生じる共通のイベント、あるいはその影響の差異を検討することにより、AOP開発に資する実験データ支援を行う。

B. 研究方法

今年度は、免疫組織化学により、各神経細胞への影響（変化）を検出するための条件確認を行った。10%中性緩衝ホルマリンにて固定した成熟マウス（13週齢）の脳組織について、パラフィン切片（10 μ m）を作製し、各細胞の分化マーカーを用いた免疫組織化学を行った。パラフィン切片はキシレンで脱パラフィンし、エタノールにて段階的に再水和した。HistoVT One により 90℃、30 分で抗原賦活化処理し、Blocking One と共に 4℃で1時間ブロッキング処理した後、一次抗体処理を行い、4℃で一晩インキュベートした。一次抗体には以下のものを用いた：rabbit polyclonal anti - doublecortin (DCX; Abcam)、rabbit monoclonal anti-neuronal nuclei (NeuN; Abcam)、goat polyclonal anti - SRY - related HMG - box 2 (SOX2; Santa Cruz Biotechnology)、rabbit monoclonal anti-glial fibrillary acidic protein (GFAP; Abcam)、mouse monoclonal anti-myelin associated glycoprotein (MAG; Abcam)、rabbit monoclonal anti-NeuroD1 (Abcam)（いずれも 300 倍希釈）。PBS で洗浄後、二次抗体として Alexa Fluor 488 および 594 標識抗体 (Invitrogen; 1,000 倍希釈) を用い、4℃

で 2 時間処理した。核は Hoechst 33342 (5,000 倍希釈) で染色した。一次抗体および二次抗体、Hoechst 33342 は、Blocking One および PBS の混合溶液で希釈して用いた。

また、ネオニコチノイド系農薬であるイミダクロプリド (IMI) を被験物質として選択し、幼若期（2 週齢）および成熟期（10 週齢）の C57BL/6N 雄性マウスに 8mg/kg の用量で単回強制経口投与する実験を行った。対照群には用いた溶媒としてコーンオイルを投与した。被験物質の投与後、12～13 週齢時に個体の行動に及ぼす影響を検出するため、自発運動量、情動行動、学習記憶、情報処理機能に着目し、オープンフィールド試験、明暗往来試験、条件付け学習記憶試験、プレパルス驚愕反応抑制試験を組み合わせた行動試験を行った。行動試験終了後、解析に用いたマウスから脳組織を採取し、今後の実験のためのサンプルとした。得られた実験データに対しては、Dunnett の多重比較検定を用いて統計解析を行った。有意水準は 5% ($p < 0.05$) に設定した。

（倫理面への配慮）

動物実験の計画及び実施に際しては、科学的及び動物愛護的配慮を十分行い、所属の研究機関が定める「国立医薬品食品衛生研究所・動物実験等の適正な実施に関する規程」を遵守した。

C. 研究結果

行動影響が検出された際に、関連する影響が観察されやすい海馬歯状回を中心に免疫組織化学を行った結果、各細胞の主要な分化マーカーについて、成熟ニューロン (NeuN)、新生ニューロン (DCX, NeuroD1)、神経幹細胞 (Nestin, SOX2)、アストロサイト (GFAP)、オリゴデンドロサイト (MAG)

の発現および局在を安定して検出できることを確認した。また、行動試験の結果から、イミダクロプリド幼若期投与群において、コントロール群と比較して、オープンフィールド試験における移動回数の有意な減少、移動速度の有意な増加が認められた。明暗往来試験については、不安関連行動の指標となる明室滞在時間、明暗往来数、暗室待機時間の有意な減少が認められた。さらに、条件付け学習記憶試験において、音-連想記憶の有意な低下が認められた。成熟期投与群においては、コントロール群と比較して、各行動影響の指標となるものに有意な差は認められなかった（図 1）。

D. 考察

各種行動試験の結果から、モデル化学物質を用いた本投与計画において、生後発達期への化学物質曝露により、急性の末梢神経毒性とは異なる、成熟後の中枢神経系への影響が誘発されることが確認できた。特に、幼若期投与群において、多動的傾向、不安の亢進、記憶異常と考えられる特徴的な行動逸脱が観察され、引き続き詳細な解析を実施するとともに、関連する神経基盤を明らかにすることが重要である。次年度以降、複数の候補被験物質を用いて同様の解析を行い、行動試験結果および、当該物質のニューロン、グリア細胞等への影響を比較することによって、異なる作用機序を持つ化学物質間で誘発される影響の類似性、差異を検討する必要がある。

E. 結論

本研究で得られた結果や毒性発現機序の知見は、*in vitro* 試験法の適用範囲を検討するための重要なデータとなり、最終的には、取得したデータによって構築される

AOP の枠組みに基づいた NAM の開発・活用につながると考えられる。加えて、国内外で開発される NAM に対し、科学的・行政的観点からコメントを行う際にも有益であると考えられ、引き続き、発達神経毒性の AOP 作成に資する実験データを蓄積する必要がある。

F. 研究発表

F.1. 論文発表

1. Kuwagata M, Doi Y, Saito H, Tsurumoto M, Igarashi T, Nishimura T, Taquahashi Y, Hirabayashi Y, Kitajima S. A 90-day repeated oral dose toxicity study of p-cymene in rats. *Fundam Toxicol Sci* 11(4), 2024. doi: 10.2131/fts.11.169.

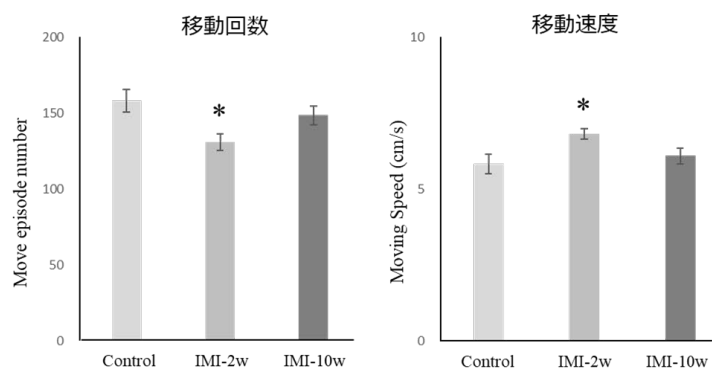
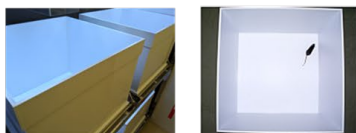
F.2 学会発表

1. 齊藤洋克、横田理、北嶋聡. セルトリ細胞におけるビメンチンの免疫組織化学的变化と精子形成不全との関連 第 51 回日本毒性学会学術年会（2024.7.3, 福岡）
2. 齊藤洋克. 周産期マウスへの化学物質曝露による遅発性情動・認知行動毒性の検出 日本内分泌攪乱物質学会第 26 回研究発表会（2024.12.7, 東京）

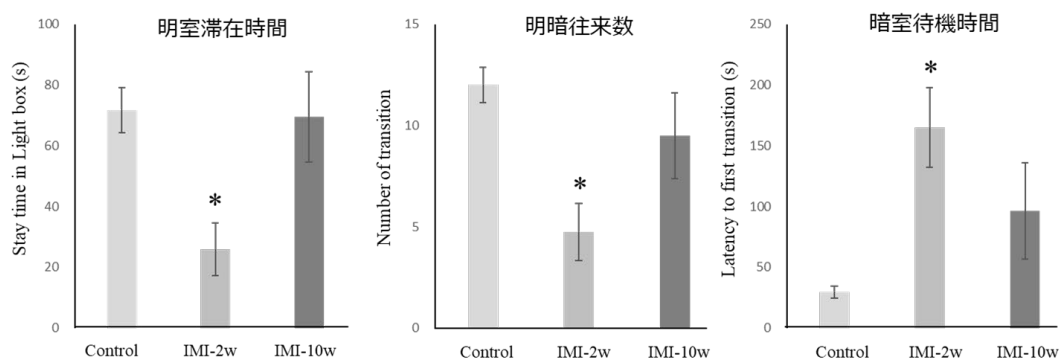
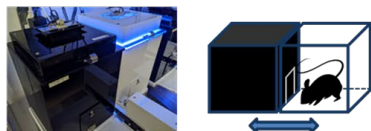
G. 知的財産権の出願・登録状況 （予定を含む。）

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案登録
該当なし
3. その他
該当なし

オープンフィールド試験



明暗往来試験



条件付け学習記憶試験

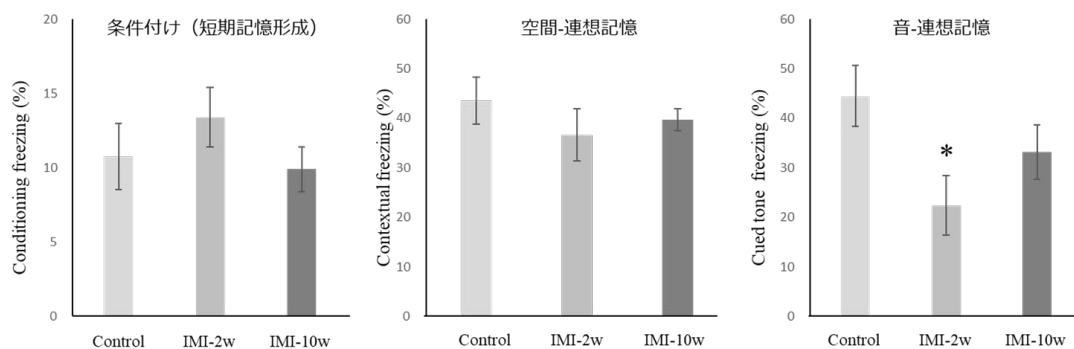
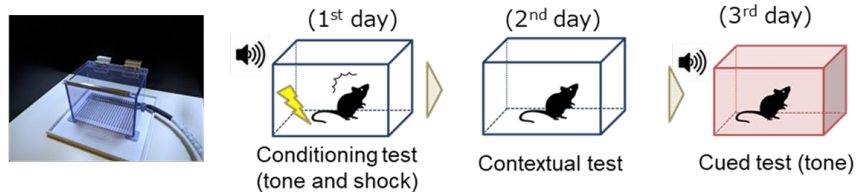


図 1. 行動試験結果の概要

N=8, Mean $\pm$ S.E., P value (Dunnnett's test)
 $p < 0.05$ * vs Control

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）

国内外で開発されOECDで公定化されるNAMを活用した試験法の行政的な
受け入れに対応するための研究

令和6年度分担研究報告書

皮膚感作性*in silico*機械学習モデルのTG 開発

研究分担者 安部 賀央里

名古屋市立大学データサイエンス研究科 准教授

研究要旨

近年、動物実験に依存しない毒性評価として、New Approach Methodology (NAM) の開発が着目されている。また、経済協力開発機構 (OECD) では、有害性発現経路 (Adverse Outcome Pathway: AOP)に基づいて、*in vitro*、*in silico*、*in vivo* を組み合わせて化学物質の有害性を評価する Integrated Approaches to Testing and Assessment (IATA)の開発が進められている。化学物質の皮膚感作性の新規評価手法として、AOP に対応した複数の *in vitro* 試験法や *in silico* 手法を組み合わせた統合的アプローチが推奨されており、皮膚感作性試験の確定方式 (DASS: Defined Approach for Skin Sensitization) ガイドライン 497 が公定化されている。そこで、本分担研究では、皮膚感作性 *in silico* 機械学習モデルの OECD TG497 への追加収載のための基盤構築を目的とし、GHS 区分を判定する回帰モデルの改良を実施した。

研究協力者

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 ゲノム安全科学部 室長

徳永 朱莉

名古屋市立大学大学院薬学研究科
レギュラトリーサイエンス分野

ドポイントの一つである。従来、皮膚感作性はマウスを用いた *in vivo* 試験である局所リンパ節試験 (Local Lymph Node Assay: LLNA) 等で評価され、皮膚感作性を成立させる化学物質の閾値濃度である EC3 値をもとに定量的な評価が検討されている。しかし、近年、動物実験に依存しない毒性評価として、New Approach Methodology (NAM) の開発が着目されている。また、経済協力開発機構 (OECD) では、有害性発現経路 (Adverse Outcome Pathway: AOP)に基づいて *in vitro*、*in silico*、*in vivo* の情報を

A. 研究目的

皮膚感作性とは、化学物質等により接触性皮膚炎を引き起こす毒性のことであり、化学物質の安全性評価において重要なエン

組み合わせて化学物質の有害性を評価する試験と評価のための統合的アプローチ (integrated approaches to testing and assessment: IATA) および デファインド アプローチ (DA: Defined Approach, 定義済み総合判定方式) の開発が進められている。そのため、皮膚感作性の新規評価手法として、AOP に対応した複数の *in vitro* 試験法や *in silico* 手法を組み合わせた統合的アプローチが推奨されている。そこで、本分担研究では、機械学習を用いて GHS 区分 (1A, 1B) を判定する皮膚感作性 *in silico* モデルを開発し、さらにモデルの透明性や解釈性を考慮し QSAR モデル報告様式 (QSAR Model Reporting Format : QMRF) の作成を通して、OECD 皮膚感作性試験の DA であるガイドライン 497 への追加収載のための基盤構築を目的とする。皮膚感作性に関する新たな *in silico* NAM を日本国内で開発することにより、NAM の開発に大きく貢献し、さらには新規評価手法の公定化が達成されることにより我が国の化学物質の安全性評価への活用が期待される。

B. 研究方法

これまでに、名古屋市立大学と国立医薬品食品衛生研究所の足利太可雄にて開発した、皮膚感作性の強度指標であるマウスの LLNA EC3 値の定量的な予測モデル (Ambe et al., Regul Toxicol Pharmacol 125, 105019 (2021)) を改良した。具体的には、皮膚感作性を対象として機械学習による予測モデルの実用化や規制安全性評

価への受け入れに向けて、適用領域の設定や外部検証を実施した。また、モデルの解釈性・説明性を目指し、モデル作成に用いた説明変数の重要度の指標である SHAP (SHapley Additive exPlanations) 値を算出し予測結果の判断根拠を示した。学習データには皮膚感作性の組み合わせ評価のためのガイドライン (DASS, OECD No.497, 2021) に掲載されている化学物質のデータを用いた。予測モデルは機械学習を用いて決定木系アルゴリズムである XGBoost による回帰モデルを構築し、GHS 区分を行った。また、さらなる予測モデルの性能向上や精緻化を目指し、他の予測モデルとの比較や、学習データの追加に向けデータ準備を実施した。

(倫理面への配慮)

二次データを使用するため該当無し

C. 研究結果

モデル構築および内部検証用データとして皮膚感作性の組み合わせ評価のためのガイドライン (DASS, OECD No.497, 2021) に記載されているリストから154物質、外部検証用データとして化粧品業界団体により公開された文献 (Hoffmann, 2022) から72物質の LLNA 試験結果情報を使用した。LLNA EC3 値を目的変数とし、決定木系アルゴリズムである XGBoost による回帰モデルを構築した。説明変数には、皮膚感作性の発症メカニズムに対応する3種類の *in vitro* 試験結果 (DPRA、KeratinoSensTM、h-CLAT)、OECD

QSAR ToolBoxやOPERAから算出した分子記述子、構造アラート情報から21個の変数を使用した。モデルの適用領域は、説明変数情報から、①3種類のin vitro試験結果のうち2種類以上が陽性、②k近傍法によるデータ間の距離をもとに設定した。また、各説明変数のSHAP値を算出し、モデルに対する重要度、および寄与の方向を可視化した。内部検証および外部検証データについて、適用領域内の物質を用いてモデルによる予測値が実測値の1/5倍から5倍の範囲内にある物質の割合を算出したところ、内部検証データでは80%であり、外部検証データでは65%であった。また、算出された各説明変数のSHAP値をもとに、予測モデルへの重要度を順位付けしたところ、使用した3種類全て（DPRA、KeratinoSensTM、h-CLAT）のin vitro試験結果が上位を占めた。さらに、in vitro試験において毒性が強いほど、皮膚感作性強度が強く予測され、正の相関が確認された。SHAPを用いることで、各物質の予測に寄与する変数が可視化できることや、その変数が正に寄与したか、負に寄与したかが確認できるため、モデルの予測結果を評価する際に有益な情報が提供できる。

また、モデルの予測性能を比較するために、外部検証用データに対して、安部らが2021年に構築したCatBoostモデル（Ambe et al., Regul Toxicol Pharmacol 125, 105019 (2021)）や、資生堂のANNモデル（Hirota, et al., J. Appl. Toxicol., 35, 1333-1347 (2015)）を用いて予測を行った。予測値が実測値の1/5倍から5倍の範囲内

にある物質の割合を算出したところ、本DASSモデルで36.1%、CatBoostモデルで44.4%、ANNモデルで33.3%となった。3つのモデル間で性能に大きな差はなかったことから、DASSモデルは既存の皮膚感作性強度指標を定量的に予測する機械学習モデルと比較し、予測性能が同等であることが示された。

次に、本DASS回帰モデル（XGBoostRegressor）にて算出されたLLNA EC3予測値を用いて、LLNA EC3予測値が2%以下であればGHS 1A、LLNA EC3予測値が2%より大きければGHS 1Bと判定した。内部検証のうち81物質についてGHS区分の一致を確認したところ、一致率79.0%、過大評価13.6%、過小評価7.4%であった。また、陰性については予測に使用した3種類のin vitro試験が3つとも陰性または2つ陰性の場合は陰性と判定した。これら陰性物質もあわせて計139物質の一致を確認したところ、一致率67.6%、過大評価7.9%、過小評価24.5%であった。

学習データの追加に関しては、外部検証に使用したデータや、文献情報から追加可能なデータの精査を実施中である。

D. 考察

SHAP値を用いた予測への重要度や寄与の方向の結果から、予測結果の判断根拠を確認でき、本モデルの解釈性を向上させた。皮膚感作性強度の予測においてAOPに関するin vitro試験情報を使用することは、予測

性能やモデルの解釈性向上に有用であることが示唆された。また、他のモデルとの比較から、本DASSモデルは予測性能も大きな違いがないことが確認された。さらに、適用領域の設定、モデルの汎化性能を評価する外部検証の実施、および予測結果に対する判断根拠を視覚的に表すことのできるSHAPの実装を行っているところが他のモデルに対して優位であると考えられる。これらの点は規制評価での使用を目指した定量的な皮膚感作性強度指標予測モデルとして有用性が高いと考えられる。

また、本モデルの有用性を確認するために、現在 OECD TG497 への追加が議論されている SARA-ICE モデルとの性能比較や、学習データの追加を検討する必要がある。

引き続き OECD Series on Testing and Assessment, No.386 (2023)の QMRF フォーマットを用いて QMRF の作成準備を進める。

健康危険情報

該当なし

E. 結論

皮膚感作性の発症メカニズムに基づく、解釈性の高い、皮膚感作性in silico機械学習モデルが構築できたと考えられる。本モデルは機械学習を活用したin silico NAMとして行政利用に向けた検討が期待できる。

F. 研究発表

F.1. 論文発表

1. [Ambe K.](#), Aoki Y, Murashima M, Wachino C, Deki Y, Ieda M, Kondo M, Hibi Y, Kimura K, Hamano T, Tohkin M. Prediction of cisplatin-induced acute kidney injury using an interpretable machine learning model and electronic medical record information. *Clinical and Translational Science*. 18(1), e70115 (2025).
2. [Ambe K.](#), Nakamori M., Tohno R., Suzuki K., Sasaki T., Tohkin M., Yoshinari K. Machine learning-based in silico prediction of the inhibitory activity of chemical substances against rat and human cytochrome P450s. *Chem. Res. Toxicol.* 37(11), 1843-1850 (2024).
3. Ashikaga T., Hatano K., Iwasa H., Kinoshita K., Nakamura N., [Ambe K.](#), Tohkin M. Next Generation Risk Assessment Case Study: A Skin Sensitization Quantitative Risk Assessment for Bandrowski's Base Existing in Hair Color Formulations. *Journal of Japanese Cosmetic Science Society*. 48(2), 73-77 (2024).
4. Watanabe T., [Ambe K.](#), Tohkin M. Streamlining Considerations for Safety Measures: A Predictive Model for Addition of Clinically Significant Adverse Reactions to Japanese Drug Package Inserts. *Biol Pharm Bull.* 47(3), 611-619 (2024).
5. Watanabe T., [Ambe K.](#), Tohkin M. Predicting the Addition of Information Regarding Clinically Significant Adverse Drug Reactions to Japanese Drug Package Inserts Using a Machine -Learning Model. *Ther Innov Regul Sci.* 58(2), 357-367 (2024).

F.2 学会発表

招待講演

1. Kaori Ambe Prediction of skin sensitization using machine learning JSAAE & ASCCT-ESTIV Joint Webinar (2024.12)
2. 安部賀央里 皮膚感作性評価における機械学習モデルの活用 スポンサーシンポジウム 革新的創薬支援ツールとしての New Approach Methodologies (NAMs) 最前線 CBI 学会 2024 年大会 (2024.10)(東京)
3. 安部賀央里 機械学習を活用したレギュラトリーサイエンス研究 講演データ解析を取り入れたレギュラトリーサイエンス研究の紹介 第 10 回次世代を担う若手のためのレギュラトリーサイエンスフォーラム (2024.9)(滋賀)
4. 安部賀央里 機械学習を用いた副作用予測に関する研究 シンポジウム 100 歳を超える健康設計への挑戦 第 25 回応用薬理シンポジウム (2024.9)(東京)
5. 安部賀央里 New Approach Methodologies (NAMs) を活用した皮膚感作性強度予測に向けた機械学習モデルの開発 フォーラム II New Approach Methodologies (NAMs) による毒性の評価 フォーラム 2024 衛生薬学・環境トキシコロジー (2024.9)(仙台)
6. 安部賀央里 AI/機械学習 in 毒性学～化学物質の毒性予測モデル開発～ワークショップ2 ミライの毒性学明日から役立つ最先端技術 第 51 回日本毒性学会学術年会 (2024.7)(博多)
7. 安部賀央里 機械学習を活用した薬

剤性腎障害の予測モデルの開発 ワークショップ7 ICT は急性期の腎臓診療に変革をもたらすか? 第 67 回日本腎臓学会学術総会 (2024.6)(横浜)

8. 安部賀央里 データベースと機械学習を活用した副作用予測研究シンポジウム5 医療 DX 時代を先導する「薬学×データサイエンス」の取り組み 第 26 回医薬品情報学会総会・学術大会 (2024.6)(千葉)

一般発表

1. 早川知里、安部賀央里、山田隆志、吉成浩一、頭金正博 機械学習によるヒトアセチルコリンエステラーゼ活性阻害の in silico 予測モデルの開発 日本動物実験代替法学会 第 37 回大会 (2024.11)(宇都宮)
2. 徳永朱莉、木下啓、岩佐帆乃夏、波多野浩太、中村伸昭、足利太可雄、安部賀央里 アミノ酸誘導体結合性試験 ADRA 等を使用した強感作性物質の皮膚感作性強度を予測する機械学習モデルの開発 日本動物実験代替法学会第 37 回大会 (2024.11)(宇都宮)
3. Kouki Maebara, Kyoko Ondo, Tomoaki Tochitani, Toru Usui, Izuru Miyawaki, Kaori Ambe A deep learning model for predicting chemical-induced rat hepatocellular necrosis using transcriptome data CBI 学会 2024 年大会 (2024.10) (東京)
4. 鈴木孝太郎、安部賀央里、有吉純平、神谷由紀子、頭金正博 ギャップマー型アンチセンスによるマウスでの血液中アラニンアミノトランスフェラーゼ上昇を予測するための in silico モデルの開発 第 51 回日本毒性学会学

術年会 (2024.7)(福岡)

5. 徳永朱莉、木下啓、安部賀央里、山田隆志、足利太可雄、頭金正博 機械学習を活用した皮膚感作性強度予測モデルの開発と解釈性向上に向けた検討 第 51 回日本毒性学会学術年会 (2024.7)(福岡)

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

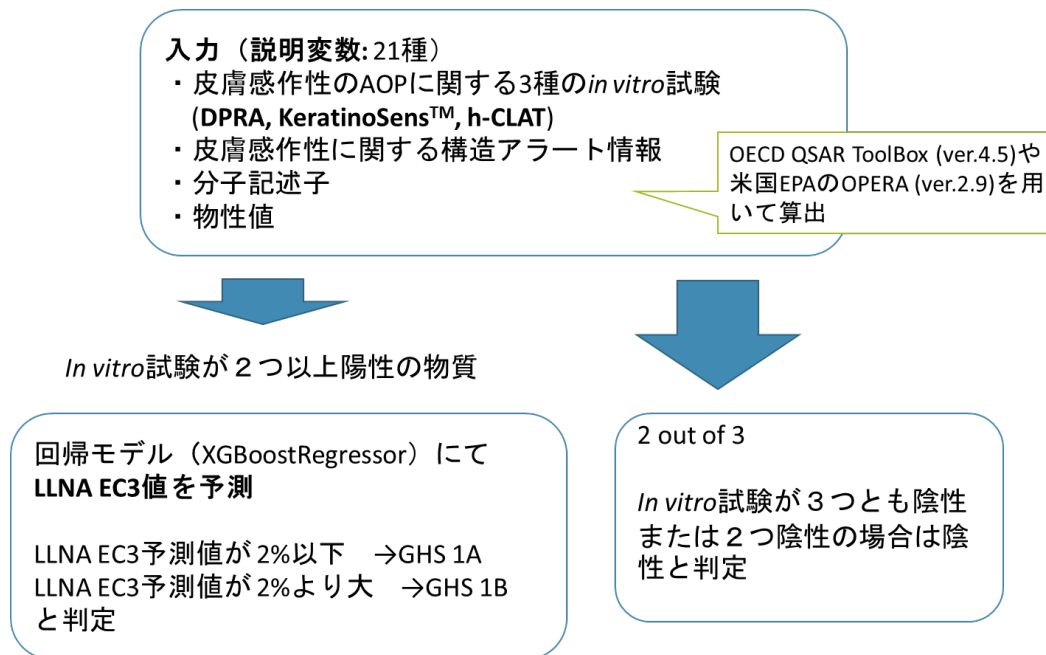


図1 皮膚感作性 *in silico* 機械学習モデルのフローチャート

国内外で開発されOECDで公定化されるNAMを活用した試験法の行政的な
受け入れに対応するための研究

令和6年度分担研究報告書

Bhas42細胞形質転換試験法のTG開発

研究分担者 大森清美

神奈川県衛生研究所 理化学部 主任研究員

研究要旨

Bhas42 細胞形質転換試験法 (Bhas 42 CTA) は、2016 年に OECD において GD231 で解説されている試験法で、NGTxC を検出する他の試験法と組み合わせて化学物質の非遺伝毒性発がん性 (NGTxC) の検出に役立つ可能性のある試験法である。OECD では、NGTxC の検出を目的とした IATA (OECD NGTxC・IATA) の開発が 2016 年から行われており、Bhas42CTA は NGTxC・IATA の構成アッセイとしてランク A の評価を受けている。令和6年度は、NGTxC・IATA の支援を受け、Bhas42CTA の TG プロジェクトの SPSF を作成し、厚生労働省から OECD に提出した。

A. 研究目的

Bhas 42 CTA は、神奈川県政策局の重点基礎研究事業として開発した細胞形質転換試験法であり、化学物質の非遺伝毒性発がん性および遺伝毒性発がん性の検出に役立つ OECD ガイダンスドキュメントとして掲載された試験法 (GD231) である。OECD では、非遺伝毒性発がん性検出を目的とした IATA (OECD NGTxC・IATA) 開発が行われており、NGTxC の作用機構 (MoA) が議論されている。そこで、NGTxC 検出を目的として開発した Bhas 42 CTA は、OECD NGTxC・IATA の構成試験法として貢献し、Bhas 42 CTA の OECD テストガイドライン (TG) を開発することを目的とする。

B. 研究方法

OECD では、OECD 非遺伝毒性専門家会議 (NGTxC) IATA の開発が 2016 年から

行われている。NGTxC では作用機構 (MoA) の議論に基づき IATA 構築の方針が国際合意され、2020 年は Expert working group としてレビュー論文を公表している。このグループの支持を得て、Bhas42 アッセイの SPSF を OECD に提出した。なお、当研究は、倫理審査および COI の指導・管理に該当しない。

C. 研究結果

OECD NGTxCは2024年9月に対面会議を行うことになり、それに先立ちWebでの全体会議およびCell transformation assay (CTA) Block (Block 3) のWeb会議が3回開催された。対面会議において、2024年のOECD WNT会議に日本から提出された Bhas 42 cell transformation assay (Bhas 42 CTA)のTGプロジェクトのSPSFについて、概要と背景についての報告の要請を受けて実施した。2016年のWNT会議において

Bhas 42 CTAがGuidance documentに位置付けられた経緯を背景とし、近年追加されたメカニズム論文、NGTxCでの形質転換試験結果と網羅的解析によるメカニズムデータ、発がん性予測率の向上およびBhas 42 CTAが組込まれた労働安全衛生法の発がん性評価等について報告を行った。また、ECVAMからは、本SPSFへのNGTxCとしての声明発出の可否およびトランスクリプトミクスデータの位置づけについて議題が出され、協議の結果、NGTxCによる Bhas 42 CTAのTGプロジェクトへの支援が合意された。Bhas 42 CTA のTGプロジェクトのSPSF原案は、NGTxCからの助言を受けて、10月に厚生労働省からOECDに提出され、各国および関係機関による査読の結果、

多くの国および機関から本SPSFへの賛同が得られた。

結果として、本SPSFは承認されたが、TG作成を承認するかどうか判断する前にSystematic literature Reviewを実施し、Bhas 42CTAの作用機構を明確にすることが条件とされた。

D. 考察

OECD NGTxC での対面会議において、Bhas 42 CTA の TG プロジェクトおよび SPSF の提出へのエキスパートグループメンバーの大方の賛同と支援の決議が得られたことは、今後の TG 申請過程における大きな力となることが期待される。

E. 結論

2024 年 9 月に開催された OECD NGTxC 対面会議では、Bhas 42 CTA の TG プロジェクトへの支援が合意され、

NGTxC の助言を反映した SPSF が厚生労働省から提出された。

F. 研究発表

F.1. 論文発表

なし

F.2 学会発表

1. 廣田京飛, 大森清美, 内田和歌奈, 山岸夏望, 小沼泰子, 宮本健司, 内田絢斗, 白川真一, 福田淳二. Vision Transformer を用いた Bhas42 細胞形質転換試験のフォーカス判定モデルの構築. 日本動物実験代替法学会 第37回大会 (2024.11.29-12.01)

G. 知的財産権の出願・登録状況

なし

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）

国内外で開発されOECDで公定化されるNAMを活用した試験法の行政的な
受け入れに対応するための研究

令和6年度分担研究報告書

In vitro toxicokineticsのDRP開発

研究分担者 山崎 大樹

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薬理部 室長

研究協力者 石田誠一 崇城大学・教授

研究要旨

昨今、動物実験を用いないで全身毒性を評価するため、動物実験代替法の枠に捉われない概念として、New Approach Methodology (NAM) の開発が盛んである。NAMとは「動物実験の利用を避けた化学物質の有害性およびリスク評価における情報を用いるための技術、方法、アプローチ、またはその組み合わせ」と米国環境保護局(EPA)により定義されている。経済協力開発機構(OECD)の試験法ガイドライン(TG)プログラム各国調整官作業部会(WNT)や2023年に新設されたAdvisory Group on Emerging Science in Chemicals Assessment (ESCA)では、NAMに用いる新興技術の公定化のためのバリデーションを加速するための基準や仕組みの改定を促している。

本研究班は、このような世界的な動向に呼応してNAMの開発を加速し、新興技術に基づく評価法を公定化させるとともに、他国が提案するOECD大型プロジェクトに関与し、得られた成果を化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律(化審法)や毒物及び劇物取締法(毒劇法)などの我が国の厚生労働行政に反映させることを目的とする。

分担研究者の山崎は、近年、ヒト外挿性の向上や動物実験代替促進の観点から製薬業界を含む多くの業界で注目を集めている生体模倣システム(MPS: microphysiological systems)について、腸-肝連結の初回通過効果モデルに関してOECD TG417のToxicokineticsの一部を代替する試験法開発を他の課題で実施している。将来的に、他の課題で開発している試験法によりTG417の改訂あるいは新規TG作成を目指すべく、第一段階として「Detailed Review Paper for Gut-Liver MPS Toxicokinetics」に関するDRPの作成を本研究班での最終目標としている。DRP作成を行うにあたり、2024年10月にOECDへSPSF(Standard Proposal Submission Form)を提出した。DPRを作成するための専門家を国内外からリクルートするとともに、2025年1月にはOECD各国の専門官からSPSFのレビューが返ってきたため、それに対する改訂版の作成を行った。

A. 研究目的

昨今、動物実験を用いないで全身毒性を評価するため、動物実験代替法の枠に捉われない概念として、New Approach Methodology (NAM) の開発が盛んである。NAM とは「動物実験の利用を避けた化学物質の有害性およびリスク評価における情報を用いるための技術、方法、アプローチ、またはその組み合わせ」と米国環境保護局 (EPA) により定義されている。経済協力開発機構 (OECD) の試験法ガイドライン (TG) プログラム各国調整官作業部会 (WNT) や2023年に新設されたAdvisory Group on Emerging Science in Chemicals Assessment (ESCA) では、NAMに用いる新興技術の公定化のためのバリデーションを加速するための基準や仕組みの改定を促している。

本研究班は、このような世界的な動向に呼応して NAM の開発を加速し、新興技術に基づく評価法を公定化させるとともに、他国が提案する OECD 大型プロジェクトに関与し、得られた成果を化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律 (化審法) や毒物及び劇物取締法 (毒劇法) などの我が国の厚生労働行政に反映させることを目的とする。

近年、ヒト外挿性の向上や動物実験代替促進の観点から製薬業界を含む多くの業界で生体模倣システム (MPS: microphysiological systems) が注目を集めている。山崎は、腸-肝連結の初回通過効果モデルに関して OECD TG417 の Toxicokinetics の一部を代替する試験法開発を AMED 等の他課題において実施している。将来的に、他の課題で開発している試験法により TG417 の改訂あるいは新規 TG 作成を目指すべく、第一段階として「Detailed Review Paper for Gut-Liver MPS

Toxicokinetics」に関する DRP の作成を本研究班での最終目標として研究を進めた。

B. 研究方法

B-1. SPSF 作成

in vitro toxicokinetics に関する Detailed Review Paper (DRP) 開発を進めるため、Standard Project Submission Form (SPSF) 「Detailed Review Paper for *in vitro* toxicokinetics」を作成し、厚生労働省を通じて OECD へ提出した。

B-2. 専門家のリクルート

上記 SPSF へのコメント対応ならびに SPSF が承認され DRP 作成を進めるための国内外の専門家メンバーのリクルートを行った。国内の専門家に関しては、薬物動態を専門とするアカデミアの研究者を中心に声をかけた。海外の専門家については、国際 MPS 学会 (6 月シアトル)、EUROTOX 2024 (9 月コペンハーゲン)、日米合同薬物動態学会 (9 月ハワイ)、SELECT BIO ASIA (11 月成田) にて PBK モデリングや薬物動態を専門とする研究者に声をかけ、DRP ドラフトメンバーに入ってもらおうよう口頭での説明ならびにメールでの依頼を行った。

B-3. SPSF の改訂

OECD 加盟国の専門官から SPSF に対するレビューが返ってきた後、上記の専門家とともに対面にて SPSF へのレビューに対する回答案の作成を行った。

B-4. 班内の支援

班内では、研究分担者の美谷島教授および研究協力者の煙山准教授 (東京農薬大学) が、肝臓並びに腸管オルガノイドを用いて化学物質の毒性評価系の構築に向けた検討を実施している。特に腸管か

ら肝臓にかけての *in vitro* toxicokinetics に関連する代謝修飾を踏まえた毒性発現を評価することを目的として実験系の構築に取り組んでいる。山崎が進めている腸－肝連結の初回通過効果モデルに関して OECD TG417 の Toxicokinetics の一部を代替する試験法の開発および「Detailed Review Paper for Gut-Liver MPS Toxicokinetics」への参考となるデータを取得するため、美谷島教授らとの連携を進めた。

（倫理面への配慮）
該当なし

C. 研究結果

C-1. SPSF 作成

OECD テストガイドライン (TG) 417 Toxicokinetics は、2010 年 7 月に承認されたものであり、基本的にラットを用いて毒性試験の結果の解釈を支援するためのものと理解されている。ラット体内における化学物質の吸収・代謝・分布・排泄を血中や組織内動態から求めることが試験内容として記載されている。科学技術の革新により、これを MPS 等の *in vitro* 評価法と *in silico* 評価法で構成することを目指したものにすべく、SPSF「Detailed Review Paper for *in vitro* toxicokinetics」を作成し、厚生労働省を通じて OECD へ提出した。

C-2. 専門家のリクルート

国内専門家として、北里大学 前田和哉教授、金沢大学 白坂善之准教授、金沢大学 増尾友佑准教授を分担研究者の小島が招聘し、12 月 11 日（水）に開催した「厚生労働科学研究平林班 第 3 回 MPS 検討会」にて下記に関して詳細な説明を行った。

- SPSF「Detailed Review Paper for *in vitro* toxicokinetics」の内容
- 欧州および米国から提出された SPSF「Development of Test Guidelines for Measuring Human Hepatic Clearance and Plasma Protein Binding Using *In Vitro* Methods and Integration in a Defined Approach for Toxicokinetic Characteristics」に対する山崎および研究協力者の石田教授のコメント
- 2025 年 1 月 10 日の「第二回 MPS 実用化推進協議会学術シンポジウム」および 1 月 11 日開催の「*In vitro* toxicokinetics meeting」の内容とメンバー構成

欧州および米国からの SPSF および 1 月 11 日開催の「*in vitro* toxicokinetics meeting」に対して専門家としての意見を提案できるよう依頼し、前田教授、増尾准教授、白坂准教授から承諾を得た。

海外の専門家としては、国際 MPS 学会にて Dr. Monica Piergiovanni (Joint Research Center)、EUROTOX 2024 にて Dr. Nynke I. Kramer (Wageningen University & Research)、国際薬物動態学会にて Dr. Bhagwat Prasad (Washington State University)、SELECT BIO ASIA にて Dr. Mandy B. Esch (NIST (National Institute of Standards & Technology)) に DRP drafting member の依頼を行った。最終的に、Dr. Bhagwat Prasad および Dr. Mandy B. Esch に「第二回 MPS 実用化推進協議会学術シンポジウム」および「*In vitro* toxicokinetics meeting」参加の承諾をいただいた。また、別途 Dr. Nicole Kleinstreuer (National Interagency Center for the Evaluation of Alternative Toxicological Methods (NICEATM) / Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative

Methods (ICCVAM))にも会議への参加を依頼し、「第二回 MPS 実用化推進協議会 学術シンポジウム」および「In vitro toxicokinetics meeting」に分担研究者の小島が招聘した。

上記のメンバーに加えて東京大学 楠原洋之教授、東京農業大学 美谷島克宏教授に対して追加で DPR 開発の協力を依頼した。以上 8 名と本 SPSF の提案者である石田教授及び山崎の合計 10 名で SPSF が承認された場合に DPR 開発を進めることとした。

C-3. SPSF の改訂

OECD 加盟国の専門官から SPSF に対するレビューが返ってきた後、1 月 11 日開催の「In vitro toxicokinetics meeting」にて上記の専門家とともに対面にて SPSF へのレビューに対する回答案について議論を行った。SPSF 原案の内容が toxicokinetics 全体を網羅しており多岐に渡るため、複雑でわかりにくいとの意見が多かったためタイトルを「Detailed Review Paper for Gut-Liver MPS Toxicokinetics」に変更し、腸－肝連結 MPS での評価に絞った内容に改訂した。また、米国および EU から提出された SPSF 「Development of Test Guidelines for Measuring Human Hepatic Clearance and Plasma Protein Binding Using In Vitro Methods and Integration in a Defined Approach for Toxicokinetic Characteristics」や、WPHA（OECD ハザード評価作業部会）で化学物質の体内分布に関する PBK モデリングについての GD331 の改訂が行われていることを考慮して、フローチャート（図）を添付し、各提案の違いと将来的な展望について説明を追加した。2025 年 2 月末の各国のナショナルコーデ

ィネーター会議にて、OECD 事務局から米国および EU 提案の SPSF との違いや MPS に関連して ISO で議論されている内容との差異を追加で説明するよう依頼があったため、追加資料の作成を行った。

その結果、年度をまたぐが、2025 年 4 月初旬の WNT 会議にて、本提案は強い反対意見が出ることなく承認された。

C-4. 班内の支援

美谷島教授らへ MPS に関する国内国際動向を説明し、その中で腸－肝連結の初回通過効果モデルに関して OECD TG417 の Toxicokinetics の一部を代替する試験法の開発の意義を説明した。美谷島教授らが得意とするマウスの小腸および肝臓を用いた試験法の構築を進めることにより、in vivo および in vitro での化学物質データの比較が可能と考え、提案を行った。また、2025 年度からは定期的（1 ヶ月に 1 回程度）な打合せを行うこととなった。

D. 考察

SPSF の原案に対して、各国からは概ね賛成する意見が多かったが、OECD 事務局はやや批判的であった。MPS をガイドラインに盛り込む記載を加えたことにより興味深く感じている印象であった。一方で、内容が複雑でわかりにくい、とのコメントの他に、米国・EU 提案の SPSF との違いについて説明を求めるもの、使用する細胞のドナーに対する倫理的配慮に関するもの、GD331 に対するコメントが多かった。これらのコメントに対しては、一つ一つの質問に対して作成した回答で理解いただけたと考えている。今回の提案は、MPS を使用する一例として考えており、これをきっかけに

同様の提案が増える可能性がある。今回の提案が今後開発されるハザード評価系を統合する要となり、その作業に日本が中心的な役割を担っていかなければならない。今後 10 名のメンバーで DRP の開発を進めることとなる。

E. 結論

OECD が「Detailed Review Paper for Gut-Liver MPS Toxicokinetics」の開発を認めるべく尽力した。

F. 研究発表

F.1. 論文発表

- 1 **Yamazaki D.** Ishida S. Global expansion of microphysiological systems (MPS) and Japan's initiatives: Innovation in pharmaceutical development and path to regulatory acceptance. *Drug Metab Pharmacokinet*, 2025 Feb;60:101047.
- 2 **山崎大樹**, 石田誠一. “培養細胞が拓く創薬の今— 研究、規制、自動化、そして教育へ —”, MPS研究開発とレギュラトリーサイエンス, 古江美保監修, (株)シーエムシー・リサーチ, 東京 (2025)

F.2 学会発表

- 1 **Yamazaki D.**, Horiuchi S, Ikeda Y, Shinha K, Koda N, Masuo Y, Kimura H, Kato Y. Development of an evaluation system for drug-induced cardiotoxicity via hepatic metabolism using co-culture of human cryopreserved hepatocytes and engineered heart tissue. EUROTOX 2024 (2024.9.9)

- 2 **Yamazaki D.** Development of a liver-heart co-culture system using a microfluidic plate to evaluate drug-induced cardiotoxicity via hepatic metabolism. SELECT BIO, Lab-on-a-Chip Asia 2024 (2024.11.7-8)

G. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

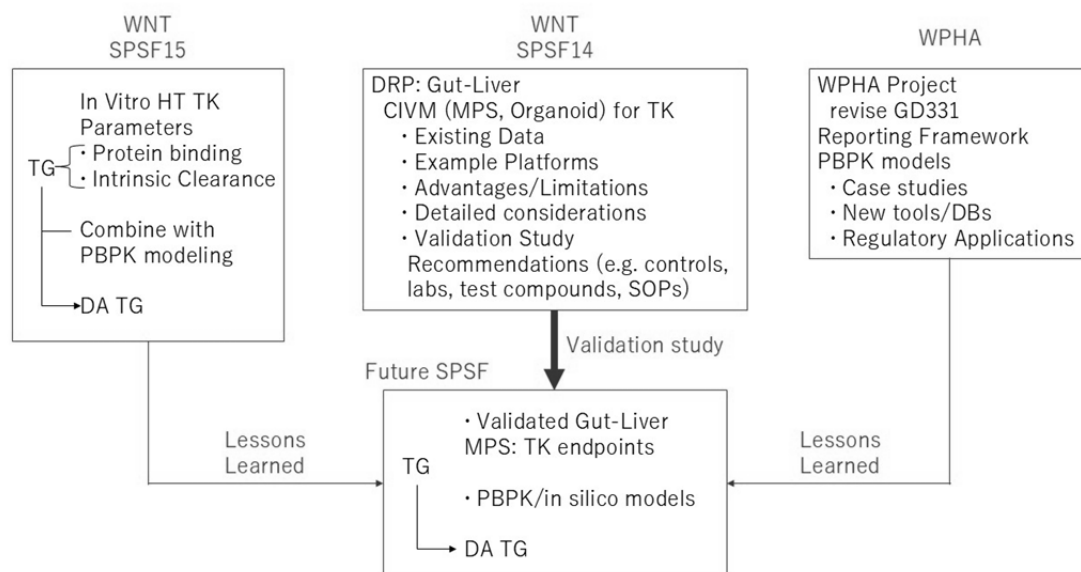


図 SPSF#14（日本提案）、SPSF#15（米国・EU 提案）および WPHA GD331 改訂のフローチャート

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）

国内外で開発されOECDで公定化されるNAMを活用した試験法の行政的な受け入れに対応するための研究

令和6年度分担研究報告書

OECD ESCAプロジェクト対応

研究分担者 西村 拓也

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 毒性部 室長

研究要旨

昨今、動物実験を用いないで全身毒性を評価するため、動物実験代替法の枠に捉われない概念として New Approach Methodology (NAM) の開発が盛んである。現在、経済協力開発機構 (OECD) の試験法ガイドライン (TG) プログラム各国調整官作業部会 (WNT) や 2023 年に新設された Advisory Group on Emerging Science in Chemicals Assessment (ESCA) では、NAM に用いる新興技術の公定化のためのバリデーションを加速するための基準や仕組みの改定を促している。本研究班では、このような世界的な動向に呼応して NAM の開発を加速し、新興技術に基づく評価法を公定化させるとともに、他国が提案する OECD 大型プロジェクトに関与し、得られた成果を化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）や毒物及び劇物取締法（毒劇法）などの我が国の厚生労働行政に反映させることを目的として活動している。本研究分担者は、OECD ESCA の Advisory Group 会議（2024 年 6 月 25-27 日開催）及び新規プロジェクト提案に関する web 会議（2024 年 10 月 28 日、2024 年 1 月 16 日）等に参加し、新興技術を用いた評価法（NAM）に関して公定化をすすめる仕組みに関する課題や、他国が提案するプロジェクトに関する情報収集を行っている。本年度は、オミクス、次世代シーケンシング、iPS 細胞、AI 利用を中心とした議論や NAM の行政利用上の課題に関する意見交換が展開されており、本邦での NAM 開発の支援や化学物質規制のために必要な対応の検討を行うために、継続的に情報を収集することの重要性が認識された。

A. 研究目的

本研究班は、NAM の開発を加速し、新興技術に基づく評価法を公定化させるとともに、他国が提案する OECD 大型プロジェクトに関与し、得られた成果を化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）や毒物及び劇物取締法（毒劇法）などの我が国の厚生労働行政に反映させることを目的とする。

B. 研究方法

研究分担者（西村）は、本研究班における国際情報調査を担当する。調査の方法としては、研究代表者の平林及び研究分担者の中江らとともに OECD ESCA の Advisory Group 会議（2024 年 6 月 25-27 日開催）及び新規プロジェクト提案に関する web 会議（2024 年 10 月 28 日、2024 年 1 月 16 日）等に参加し、新興技術を用いた評価法（NAM）に関して公定化をすすめる仕組み

や他国が提案するプロジェクトに関しての情報収集を行う。

C. 研究結果

国際情報調査として ESCA 会合及び web 会議での主な議論や動向については、以下のとおりである。

- ESCA では、参加国の科学者及び規制当局者を対象に、NAM を国際的に受け入れる際の科学的課題に関するアンケート調査が実施されている。具体的な課題として、i)動物試験でカバーされる複雑なエンドポイントに対する NAM の限界、ii)異なる NAM で結果が一致しない場合の解釈、iii)TG34 改訂による改善が期待されているが NAM の信頼性確立手法に時間を要すること、iv)NAM に関する情報制限やバリデーションの課題から行政での受入れに膨大な時間を要すること等が認識されている。なお、新規試験法の開発を進めるための方法論として、開発者と規制当局者間で使用範囲を定めて開発すること（concept of co-design）や、テストガイドライン化できない手法に対する枠組みなどが議論されている。
- 2024 年の ESCA 会合では複数のプロジェクトについて参加国間で意見交換が行われている。2024 年 ESCA 会合の議事録は現時点で未公表である。（参考までに 2023 年 ESCA 会合の議事録のリンク先を次に示す：[https://one.oecd.org/document/ENV/CBC/WRPR\(2024\)3/en/pdf](https://one.oecd.org/document/ENV/CBC/WRPR(2024)3/en/pdf)）。なお、現在、2024 年以前から継続しているオミクスに関するガイドライン化の他、特に変異原性評価における IATA 開発、次世代シーケンスを用いた新規評価

手法開発、iPSC 使用に関するレビュー
ペーパー作成、AOP 開発における AI の活用に関する動きが注目に値する。

D. 考察

OECD で進められている次世代シーケンスや iPSC 使用に関する作業計画などは、今後、この分野での科学者及び規制当局者間の理解のギャップを埋める上で重要な動きになると思われる。

E. 結論

本年度は、NAM 開発におけるオミクス、次世代シーケンス、iPS 細胞、AI 利用を中心とした議論や NAM の行政利用上の課題に関する意見交換が展開されている。本邦での NAM 開発の支援や化学物質規制のために必要な対応の検討を行うために、OECD ESCA グループにおいて継続的に情報を収集することの重要性が認識された。

F. 研究発表

論文発表

1. Yokota S, Hashimoto K, Sato T, Uemura K, Makiyama K, Nishimura T, Kitajima S, Ogawa T.: A long-term mouse testis organ culture system to identify germ cell damage induced by chemotherapy. Curr Res Toxicol. 2025, 11:8:100228. doi: 10.1016/j.crttox.2025.100228.eCollection 2025.
2. Hashimoto K, Arakawa H, Imamura R, Nishimura T, Kitajima S, Sato T, Makiyama K, Ogawa T, Yokota S. A novel alternative method for long-term evaluation of male reproductive toxicity and its recovery using a pre-pubertal

mouse testis organ culture system. J Appl Toxicol. 2024, 44(5):784-793. doi: 10.1002/jat.4584. Epub 2024 Jan 23.

3. Kuwagata M, Doi Y, Saito H, Tsurumoto M, Toshime Igarashi, Nishimura T, Taquahashi Y, Hirabayashi Y, Kitajima S. A 90-day repeated oral dose toxicity study of p-cymene in rats. Fundamental Toxicological Sciences, 2024, 11, 169-181; doi:10.2131/fts.11.169
4. 西村拓也, 直田みさき, 大久保佑亮, 平林容子. ICH S6 バイオ医薬品の非臨床安全性評価の見直しについて 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス 2024, 55, 423-425
5. 西村拓也, ICH-S11 ガイドラインの WoE アプローチにおける考慮事項 ファームテックジャパン 2024, 40, 523-525
6. 西村拓也, 西村次平, 伊藤かな子, 高橋祐次
7. 医薬品開発における非臨床安全性評価の変遷. 日本獣医史学雑誌 2024, 61, 41-58

F-2. 学会発表

1. M. Naota, T. Nishimura, Y. Okubo, Y. Suzuki, M. Suzuki, K. Kinoshita, K. Watanabe, T. Nakazawa, H. Onodera, M. Kuwagata, Y. Hirabayashi, Survey on safety profile of general toxicity Studies using non-human primates for Antibody drugs approved in Japan after revision of ICH-S6, The 64th Annual Meeting of the Society of Toxicology (2025.3.17)
2. 内分泌かく乱化学物質のスクリーニング評価における子宮肥大試験の継続的な取り組み、五十嵐智女, 相田麻子, 横田理, 西村拓也, 高橋祐次, 桑形麻樹子, 北嶋聡、日本内分泌攪乱物

質学会 第 26 回研究発表会、2024 年 12 月

3. Nishimura T, Hirabayashi Y, Ogawa K, Tsunoda S, Suzuki M, Sato G, Yuji Taquahashi Y. Update and Compilation of the database of the glossary for nonclinical toxicity studies ‘Dokuseishiken Yougoshuu’. 第 51 回日本毒性学会学術年会 (2024.7.6)
4. Nishimura T, Maki K, Kinoshita K, Suzuki M, Nakazawa T, Naota M, Mikashima F, Hirabayashi Y. The Current Situation and Challenges in Non-Clinical Safety Evaluation of Biopharmaceuticals in Japan. 米国 Society of Toxicology (2024.3.11)

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案登録
該当なし
3. その他
該当なし

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）

国内外で開発されOECDで公定化されるNAMを活用した試験法の行政的な
受け入れに対応するための研究

令和6年度分担研究報告書

OECD ESCAプロジェクト対応

研究分担者 中江 大

帝京平成大学健康医療スポーツ学部

医療スポーツ学科動物医療コース 教授

研究要旨

本研究は、OECDのESCAプロジェクトに参画し、OECDにおける試験法開発の現状を把握すると共に、当該プロジェクトに貢献することである。

本研究では、2024年7月のESCA/WPHA合同会議およびESCA会議と2025年1月のESCAリモート会議に出席し、議論に参加した。

会議では、WPHA、WNTなどによる各種作業の進捗状況報告に対してESCAの立場から議論が行われた。また、ESCAとしてWPHAおよびWNTとの協力関係を深化させることが有意義であるとし、その方法論や具体的な協力テーマが示された。

ESCAの活動は多岐に渡り、WPHAやWNTほか各種の関連組織との連携により、新たな試験法開発に資するものである。NAMsの開発と実用化は各方面で進められているが、バリデーションなどの点で様々な課題があり、拙速な進め方は歪みを生むおそれがある。AOPやIATAの構築についても同様である。この問題についてはESCAの会議においても危惧されており、関係機関に慎重な対応が求められ、ESCA内部でも十分に議論した上で該当機関に助言すべきであると指摘されていた。

以上より、ESCAプログラムは、OECDの活動の中で今後重要な役割を果たすものと考えられた。新しい試験法の開発を進めるに当たっては、第三者による科学的で客観的な査読・助言が必要である。ESCAは、その主体として有効な組織であると考えられる。

A. 研究目的

本研究の目的は、OECDのWorking Party on Hazard Assessment（WPHA）やWorking Group of National Co-ordinators of the Test Guidelines Programme（WNT）において進められている新しい試験法開発に対する諮問への対応や、OECDが取り組むべき課題に関する提言を行うべく設けられたAdvisory Group on Emerging Science in Chemicals Assessment（ESCA）プロジェクト

に参画し、OECDにおける試験法開発の現状を把握すると共に、当該プロジェクトに貢献することである。

B. 研究方法

1. ESCA 会議

2024年7月25日から27日に開催されたESCA/WPHA合同会議およびESCA会議と2025年1月16日に開催されたESCAリモート会議に出席し、議論に参加した。前者

はパリで開催されたが、大学本務の関係でリモート参加した。

なお、2025年3月31日から4月1日にパリで開催された ESCA/WNT 合同会議および ESCA 会議にもリモート出席したが、年度を跨ぐので、次年度に報告する。

2. SPSF 査読

「Validation of Cell Proliferation test methods as a Key Event in Non-Genotoxic Carcinogenicity」と題する SPSF の査読を行った。

3. 国内情報収集

付属する活動として2024年8月20日から22日に米子で開催された第37回発癌病理研究会と、2024年9月19日から21日に福岡で開催された第83回日本癌学会学術総会に出席し、国内における新しい評価手法（New Approach Methodologies、NAMs）の状況について情報を収集した。

（倫理面への配慮）

会議出席であるので、倫理面への配慮を必要としなかった。

C. 研究結果

1. ESCA 会議

7月の ESCA/WPHA 合同会議では、2024年第2四半期に ESCA および WPHA で実施された、新たな科学的手法の国際的な規制適用に関する科学的課題についてのアンケートの結果について議論され、NAMs の開発やバリデーションに関する複数の課題が提示された。また、ハザードアセスメント(HA)プログラムの現在の作業計画、新しい IATA フレームワーク・テンプレート、HA 作業計画に追加された新規プロジェクト、将来の潜在的な作業領域に関するブレ

ーンストーミングの結果などが示された。まだまだ課題は多いが、変異原性分野におけるエラー訂正次世代シーケンシングに関する論文にみられるように科学的知識のギャップを埋めて科学者と規制当局の間の共通理解を構築するための重要な取り組みが行われていることも報告された。IATA については、研究データと試験ガイドラインにギャップがあるため、それをカバーする方法が必要で、発達神経毒性（DNT）で成功している非ガイドライン試験法の Defined Approaches（DA）が有用であるとの指摘があった。そのほか、多くの課題が示され、議論された。

7月の ESCA 会議では、WPHA および WNT との協力関係を深化させることが有意義であるとした。その方法論として、①プロジェクトを支援するために専門家グループが設立された場合、プロジェクトの初期段階から専門家グループに参加する；② DNT やオミックスなど、すでに設立されている専門家グループに参加する；③成熟したドラフト文書の専門家レビューに参加する；④現在作業計画にないプロジェクトについて、WPHA によるレビューのための提案書を作成する；などが提案された。具体的な協力テーマとしては、①非標的分析；②最終製品を通じた化学物質の追跡；③暴露の優先順位付け戦略の指針；④リスクアセスメント（RA）に適用する人工知能（AI）に対する信頼性の構築などが挙げられた。WPHA からは、以下のトピックが提案されている。

- IATA から DA へのパイプライン
- MoA/エンドポイントによってサポートされるグループ化+RA
- 化学物質管理システム-環境保護の欠如
- ヒトの健康と生態毒性との関連

- 内分泌かく乱作用のギャップ-GHS 作業へのリンク
- AOPs が支援するその他のタイプの NAMS
- 経済分析／情報の価値
- 保護／予測フレームワーク
- 機械可読データ
- 機械学習／AI
- 挑戦的な化学物質

一方、ESCA が化学物質評価のための新たな科学に関心を持っているのに対し、WNT はすでに十分に検討され、妥当性が確認された方法に重点を置いているため、ESCA が WNT と協力するのに困難があるが、以下のテーマでの協力はあり得るとされた。

- 遺伝子変異評価のためのエラー補正次世代 DNA シーケンス (ecNGS) の応用に関する DRP
- TG における人工多能性幹細胞 (iPSC) および iPSC ベースのモデルの使用に関する DRP
- 肝臓オルガノイドを用いた特定標的臓器毒性 (肝臓) 試験法に関する DRP

そのほか、AOP プログラムに関する各種の報告や、ESCA ビューローおよび ESCA フォーラムの設置についての報告があった。

1 月の ESCA リモート会議では、OECD Omics Reporting Framework (OORF) によるオミックス由来データによる評価プログラムの進行状況や、WNT のプロジェクト進行状況が報告された。また、心毒性と雌性不妊に関するものを含む AOP の提案や進行報告などが為された。

2. SPSF 査読

非遺伝毒性発がん性評価における細胞増殖をキーイベントとする SPSF については、種々の問題があると評価し、それらを指摘

する報告を行った。

3. 国内情報収集

発癌病理研究会の演題の中には新規評価モデルを用いた演題もあり、たとえば受精鶏卵漿尿膜移植腫瘍モデル (CAM モデル) などは動物福祉に貢献でき、安価で迅速な抗がん剤の効果を評価できる NAM として有用なものと考えられた。また、がん細胞の糖代謝における解糖系振動を 1 細胞レベルで計測・解析し、数理モデルを構築する演題があり、がんの悪性度を評価できる可能性を示した。

癌学会学術総会において、NAMs の開発や普及を直接の主題として論じる演題はほとんどなかったが、動物を用いない研究手法による報告は多く、特にオルガノイドを用いた研究が目立った。また、AI の利用に関しても広く議論されていた。

D. 考察

ESCA の活動は多岐に渡り、WPHA や WNT ほか各種の関連組織との連携により、新たな試験法開発に資するものである。NAMs の開発と実用化は各方面で進められているが、バリデーションなどの点で様々な課題があり、拙速な進め方は歪みを生むおそれがある。AOP や IATA の構築についても同様である。この問題については ESCA の会議においても危惧されており、関係機関に慎重な対応が求められ、ESCA 内部でも十分に議論した上で該当機関に助言すべきであると指摘されていた。

E. 結論

ESCA プログラムは、OECD の活動の中で今後重要な役割を果たすものと考えられた。新しい試験法の開発を進めるに当たっては、第三者による科学的で客観的

な査読・助言が必要である。ESCA は、その主体として有効な組織であると考え
る。

F. 研究発表

F.1. 論文発表

該当なし

F.2 学会発表

該当なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

令和6年度 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）

国内外で開発され OECD で公定化される NAM を活用した試験法の行政的な
受け入れに対応するための研究

令和6年度分担研究報告書

免疫毒性の IATA および *in vitro* toxicokinetics の DRP 開発

研究分担者 小島 肇

山陽小野田市立山口東京理科大学 教授

研究要旨

昨今、動物実験を用いなくて全身毒性を評価するため、動物実験代替法の枠に捉われない概念として、New Approach Methodology (NAM) の開発が盛んである。NAM とは「動物実験の利用を避けた化学物質の有害性およびリスク評価における情報を用いるための技術、方法、アプローチ、またはその組み合わせ」と米国環境保護局 (EPA) により定義されている。経済協力開発機構 (OECD) の試験法ガイドライン (TG) プログラム各国調整官作業部会 (WNT) や2023年に新設されたAdvisory Group on Emerging Science in Chemicals Assessment (ESCA) では、NAMに用いる新興技術の公定化のためのバリデーションを加速するための基準や仕組みの改定を促している。

本研究班は、このような世界的な動向に呼応して NAM の開発を加速し、新興技術に基づく評価法を公定化させるとともに、他国が提案する OECD 大型プロジェクトに関与し、得られた成果を化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）や毒物及び劇物取締法（毒劇法）などの我が国の厚生労働行政に反映させることを目的とする。

2024年度、皮膚感作性試験代替法 EpiSensA が TG442D に追記され承認された。それに付随する EpiSensA の性能標準、免疫毒性試験 IL-2 Luc LTT 法のバリデーション報告書、IL-2 Luc LTT 法バリデーションの第三者評価報告書及び Guidance Document on IATA for phototoxicity testing の5件が OECD において採択され、9月までに OECD のホームページで公開された。

研究協力者

相場節也（元東北大学医学部皮膚科）

赤堀有美（一般財団法人 化学物質評価
研究機構）

石田誠一（崇城大学）

尾上誠実（静岡県立大学）

小野 敦（岡山大学薬学部）

笠原利彦（富士フィルム株式会社）

斎藤 嘉朗（国立医薬品食品衛生研究所）

立花滋博（一般財団法人食品薬品安全セ
ンター秦野研究所）

A. 研究目的

昨今、動物実験を用いなくて全身毒性を評価するため、動物実験代替法の枠に捉われない概念として、New Approach Methodology (NAM) の開発が盛んである。NAM とは「動物実験の利用を避けた化学物質の有害性およびリスク評価における情報を用いるための技術、方法、アプローチ、またはその組み合わせ」と米国環境保護局 (EPA) により定義されている。経済協力開発機構 (OECD) の試験法ガイドライン (TG) プログラム各国調整官作業部会 (WNT) や2023年に新設されたAdvisory Group on Emerging Science in Chemicals Assessment (ESCA) では、NAMに用いる新興技術の公定化のためのバリデーションを加速するための基準や仕組みの改定を促している。

本研究班は、このような世界的な動向に呼応してNAMの開発を加速し、新興技術に基づく評価法を公定化させるとともに、他国が提案する OECD 大型プロジェクトに関与し、得られた成果を化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）や毒物及び劇物取締法（毒劇法）などの我が国

の厚生労働行政に反映させることを目的とする。

B. 研究方法

B-1. TG、DRP 及び IATA 等の開発

（１）皮膚感作性試験代替法の開発

研究分担者足利及び小島は、皮膚感作性試験代替法 EpiSensA が TG442D に成立されるべく尽力した。また、EpiSensA の性能標準を開発し、採択に向け尽力した。

研究協力者の笠原（富士フィルム）らとともに、GL497 皮膚感作性デフィン
ド アプローチに日本で開発された試験法の追加を目指した。

さらに、研究協力者の小野（岡山大学）、赤堀（CERI）らとともに、皮膚感作性試験代替法 α -SENS 及び研究協力者の立花（食品薬品安全センター）らとともに、EpiSensA の新規表皮モデルをいずれも TG442D へ追加することを目指し、バリデーション研究に参画した。

（２）免疫毒性試験代替法の開発

小島は研究協力者の相場とともに、免疫毒性試験代替法 IL-2 Luc LTT 法のバリデーション報告書および第三者評価報告書の採択に尽力した。これを受け、免疫毒性試験 IL-2 Luc LTT 法の TG 採択を目指した。一方、免疫毒性 IATA の作成を目指す一環として、協力研究者として日本免疫毒性学会（理事長：斎藤 嘉朗）に初案作成を依頼するとともに、未完であった IL-1 Luc 法のバリデーション報告書の完成を目指した。

（３）腎毒性試験代替法の開発

研究代表者の平林、研究分担者の松下及び小島は、日機装が市販しているヒト腎細胞 3D-RPTEC(R) を *in vitro* 腎毒性評価法の TG とするため、開発者の荒川大（金沢大学）と今後の計画を練った。

（４）初回通過効果試験代替法の開発

研究分担者の山崎及び小島は、研究協力者の石田（崇城大学）とともに *in vitro* toxicokinetics に関する現状をまとめた Detailed Review Paper (DRP) 作成を提出した。

（５）眼刺激性試験および光毒性試験代替法の開発

小島は、TG437:眼腐食性および強度刺激性物質を 同定するためのウシ角膜を用いる 混濁度および透過性試験法 (BCOP) の改定に協力した。また、TG467：眼刺激性デファインド アプローチの改定に必要となった TG491：眼刺激性試験代替法 短時間曝露法 (STE) の改定に取り組んだ。

また、小島は、協力研究者の尾上（静岡県立大学）の開発した Guidance Document on IATA for phototoxicity testing の採択に尽力した。

B-2. OECD に提出する資料の事前確認と OECD からの意見募集への対応

研究代表者の平林及び小島とともに、OECD WNT の成果物を厚生労働行政に反映させるため、研究分担及び研究協力研究者とともに、日本から OECD に提出する資料を事前に確認するとともに、諸々の提案資料に対する OECD からの意見募集に適切な意見を返した。

C. 研究結果

C-1. TG、DRP及びIATA等の開発

（１）皮膚感作性試験代替法の開発

2024年のWNT会議にて、EpiSensAを加えたTG442が成立し、それに付随するEpiSensAの性能標準が採択され、9月までにOECDのホームページで公開された。

また、GL497 (DASS) 改定案に向け、日本で開発された方法を追加すべく、協力研究者とともに、日本案をOECDに送った。

バリデーションとしては、 α -SENSのバリデーション研究として施設間再現性試験の品質評価に関与した。EpiSensAのme-too試験のバリデーション研究に参画し、参加施設の技術移転及び施設内再現性に寄与した。試験スケジュールの関係もあり、食品薬品安全センターは施設内再現性のみの参加となった。

（２）免疫毒性試験代替法の開発

免疫毒性試験代替法IL-2 Luc LTT法のバリデーション報告書及び第三者評価報告書が2024年のWNT会議で採択され、2024年9月に公開された。引き続き、5月に免疫毒性試験IL-2 Luc LTT法のTG案をOECDに提出した。

また、一昨年、OECDに免疫毒性IATA作成の提案 (Standard Project Submission Form(SPSF))を提出したが、2024年4月にWNTにて却下された。まずはIATA事例報告を作成するよう指示された。そこで、免疫毒性学会に協力を求め、IATA事例の素案を作成することができた。さらに、IL-2 Luc法と組み合わせる対象として、開発者及び国際的な専門家とともに、未完であったIL-1 Luc 法のバリデーション

ン報告書の見直しに着手した。

(3) 腎毒性試験代替法の開発

ヒト腎細胞3D-RPTEC(R)をOECDに提案するにあたり、関係者で議論した結果、DRPの開発のSPSFを来年度にOECDに提出することで合意を得た。

(4) 初回通過効果試験代替法の開発

In vitro toxicokinetics に関する DRP 開発のための SPSF を OECD に提出し、各国の意見に対応した。DRP 開発に向け、国内外の専門家を招聘し、作成チームを構築した。

(5) 眼刺激性試験代替法及び光毒性試験代替法の開発

日本主導で実施しているTG437改定案について、OECD専門家会議で議論し、WNTに意見を求めた。

日本としては、BCOPへの病理学的な評価の導入し、弱い眼刺激性を評価できるTG437の改定を目指してきたが、日米の共同研究結果に対して、各国の同意は得られなかった。改定TGの中には、病理学的な評価も利用できるかもしれないとの記載に留まった。

TG467の改定に必要な界面活性剤の評価 (DASF) に利用するTG491の改定については、TG467 DASFにはSTE0.5 (変法) の利用が記載されているが、この方法はTG491に明記されていない。小島と開発者で協議の結果、TG491にSTE0.5を記載した初案作成をWNTに提案し、改定TG491にて界面活性剤の評価が可能とした上で、TG467 DASFを承認するようWNTに意見を求めた。

光毒性に関しては、Guidance Document on IATA for phototoxicity testingが2024年4

月のWNTで採択され、9月に公開された。

C-2. OECDに提出する資料の事前確認とOECDからの意見募集への対応

日本から、2023年度OECDに提出したSPSFは3件であったが、そのうち、フランスとの共同提案である以下の1件のみが採択された。

Me-Too validation of the reconstructed human epidermis Epiderm model for the EpiSensA method

IATA for *in vitro* immunotoxicity 及びTG for the Bhas 42 cell transformation assayの提案は見送りとなった。ただし、完全な却下ではなく、IATA for *in vitro* immunotoxicity に関しては、前述したように、まずIATA事例報告を作成するよう指示された。TG for the Bhas 42 cell transformation assayに関しては、OECD非遺伝毒性専門家会議にて、必要性を議論してから判断するというものであった。

2024年度のSPSFを提出するため、事前に東野分析官など（厚生労働省）、平林および小島にて内容を確認し、修正を経たものが10月中旬にOECDに提出された。今年各国から提出された25件のSPSFの内、日本提案は6件であった。このうち、2023年度、却下されたTG for the Bhas 42 cell transformation assayも含まれる。これらのSPSFはWNTにて採択の有無が議論された。結果として、#10を除く5つのSPSFがOECD作業計画に載ることになった（2025年4月末現在）。

9 Revision of the TG 491 Applicability Domain for the Short Time Exposure Test Method (STE_{0.5}) with respect to the

implementation of a defined approach for the
Ocular Toxicity Predictions of surfactants
10 Newly Developed QSAR, Consensus
Model for Predicting Skin Sensitization
11 Inclusion of the reconstructed human
epidermis-based testing strategy (RTS) into
OECD Test Guideline 497 on Defined
Approaches for Skin Sensitisation
12 Proposal for revision of TG 442B to
include the GHS subcategorization criterion
for the LLNA: BrdU-ELISA
14 Detailed Review Paper for
toxicokinetics
19 TG for the Bhas 42 cell transformation
assay

D. 考察

OECD における本年度の日本の成果物は、EpiSensA が TG442D に追記され、それに付随する性能標準、IL-2 Luc LTT 法のバリデーション報告書、IL-2 Luc LTT 法バリデーションの第三者評価報告書及び Guidance Document on IATA for phototoxicity testing の 5 件である。実質的には、EpiSensA の TG 及び Guidance Document on IATA for phototoxicity testing が成果物と言える。

一方、SPSF の採択率は、以前からの課題であり、本年度も 1/3 しか採択できなかった。却下となった主な理由は、OECD 加盟国の専門家と協力体制が構築できていなかったことによる。今後は、開発者の意見に流されず、国際協力体制の状況など、しっかりとした国内における事前審査体制を充実せねばならないと感じていたが、2025 年 4 月の WNT に

いて、5/6 が採択された。事前審査体制の賜物を考えられる。問題点を明確にしつつ、継続することが重要と考える。

E. 健康危険情報

特になし

F. 結論

2024 年の WNT 会議にて、皮膚感作性試験代替法 EpiSensA が TG442D に追記され成立し、さらに Guidance Document on IATA for phototoxicity testing が OECD において採択され、9 月までに OECD のホームページで公開された。

G. 来年度の計画

免疫毒性試験代替法 IL-2 Luc LTT 法の TG 採択、眼刺激性試験代替法 TG437 の改定、眼刺激性試験代替法 TG491 の改定及び皮膚感作性試験 GL497 への日本で開発された方法の追記を目指す。

H. 研究発表

H- 1. 論文発表

1. 小島肇夫: 動物実験代替法の歴史、Cosmetic Science、2024、10、56-63.
2. Mathisen GH, Bearth A, Jones LB, Hoffmann S, Vist GE, Ames HM, Husøy T, Svendsen C, Tsaïoun K, Ashikaga T, Bloch D, Cavoski A, Chiu WA, Davies HG, Giusti A, Hartung T, Hirabayashi Y, Hogberg HT, Joglekar R, Kojima H, Krishnan K, Kwon S, Osborne OJ, Roggen E, Rooney AA, Rousselle C, Sass JB, Sepai O, Simanainen U, Thayer KA, Tong W, Wikoff D, Wright F, Whaley P: Time for CHANGE: system-level

- interventions for bringing forward the date of effective use of NAMs in regulatory toxicology, Arch Toxicol, 2024 Jun 14. doi: 10.1007/s00204-024-03802-6.
3. Kasahara T, Yamamoto Y, Nakashima N, Imamura M, Mizumachi H, Suzuki S, Aiba S, Kimura Y, Ashikaga T, Kojima H, Ono A, Matsumoto K., Borderline Range Determined Using Data From Validation Study of Alternative Methods for Skin Sensitization: ADRA, IL-8 Luc Assay, and EpiSensA. J Appl Toxicol. 2024 Oct 30. doi: 10.1002/jat.4712.
 4. Kojima H. History of the Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) test guidelines for non-animal test methods in Japan. Genes Environ. 2025; 29;47(1):3. doi: 10.1186/s41021-024-00323-7.
 5. 小島肇夫. 皮膚感作性評価法の変遷、日皮協ジャーナル, 2025:93, 59-64.
- H-2. 学会発表
1. 成田和人, 小林美和子, 佐藤明日香, 楠木俊江, 清水淳, 伏原和久, 宮崎和雄, 立花滋博, 小島肇 : In vitro 発熱性物質試験における NEP 検出の妥当性, 第 51 回日本毒性学会学術年会 (2024.7.5, 福岡)
 2. 足利太可雄, 大屋賢司, 加藤節史, 北川剛史, 小島肇, 寒水孝司, 林克彦, 立花滋博, 益森勝志, 三嶋隆, 楠木俊江, 清水淳, 伏原和久, 宮崎和雄: 機ヒト末梢血から樹立した不死化単球細胞株を用いた発熱性物質検出系のバリデーション研究, 第 51 回日本毒性学会学術年会 (2024.7.5, 福岡)
 3. 三ヶ島史人, 真木一茂, 小島肇, 栗形麻樹子, 大久保佑亮, 星野裕紀子, 片桐龍一, 石黒司, 渡部一人, 角崎英志, 下村和裕: 医薬品の生殖発生毒性試験及び生殖発生毒性評価代替法に係る状況調査、第 51 回日本毒性学会学術年会 (2024.7.5, 福岡)
 4. 小島肇 : 動物実験代替法から New Approach Methodologies (NAM) への変遷, 第 14 回レギュラトリーサイエンス学会 (2024.9.13, 東京)
 5. Hajime Kojima: A systematic Review on the Safety Evaluation of Food Additives without Animal Testing, 18th China International Food Safety & Quality Conference, (2024. 10.31, Shanghai, China)
 6. Hajime Kojima, International progress on the development and regulatory application of NAMs/Alternatives Symposium on Innovative Collaboration in Toxicology Alternative Methods in Shanghai (2024.11.2, Shanghai, China)
 7. 小島肇 : JaCVAM の成果と今後の課題, 日本動物実験代替法学会 第 37 回大会 (2024.11.30, 栃木)
 8. 前田洋祐, 佐藤亜紗子, 武吉正博, 立花滋博, 成田和人, 小林諒太, 島田真理子, Priyanka M, Rahul D, Abhay D, Namhee K, Miriam J, 福山朋季, 松本一彦, 赤堀有美, 足利太可雄, 大野彰子, 小島肇, 小野敦: 皮膚感作性試験代替法 α -Sens® の Validation 研究 (Phase

I) , 日本動物実験代替法学会 第 37 回
大会 (2024.11.30, 栃木)

9. 稲葉 剛士,新家 功大,加藤 由布,平松
範子,杉原 英志,滝本 哲也, 佐谷 秀行,
小島 肇,山本 直樹: 医薬品の生殖発生
毒性試験代替法に有用なヒト由来細胞
株を用いた評価試験法の開発, 日本動
物実験代替法学会 第 37 回大会
(2024.11.30, 栃木)

10. 成田 和人,小林 美和子,佐藤 明日
香,楠木 俊江,清水 淳,伏原 和久, 宮崎
和雄,立花 滋博,小島 肇: In vitro 発
熱性物質試験における NEP 検出の妥
当性 ―第 2 報, 日本動物実験代替法学
会 第 37 回大会 (2024.11.30, 栃木)

11. 村上 諒一,今村 弥佳,舘下 正和,
小島 肇,正田 泰士: ルールベースモデ
ル, LLNA および GPMT 統計ベースモ
デルを用いた皮膚感作性評 価のため
の in silico コンセンサスモデル, 日本
動物実験代替法学会 第 37 回大会
(2024.11.30, 栃木)

I. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

1. 特許取得
特になし

2. 実用新案登録
特になし

3. その他
特になし

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ
山崎大樹, 石田誠一	MPS 研究開発とレギュラトリーサイエンス	古江美保	培養細胞が拓く創薬の今— 研究、規制、自動化、そして教育へ —	(株) シーエムシー・リサーチ	東京	2025	

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kasahara T, Yamamoto Y, Nakashima N, Imamura M, Mizumachi H, Suzuki S, Aiba S, Kimura Y, <u>Ashikaga T</u> , <u>Kojima H</u> , Ono A, Matsumoto K.	Borderline Range Determined using Data from Validation Study of Alternative Methods for Skin Sensitization: ADRA, IL-8 Luc Assay, and EpiSensA	<i>J Appl Toxicol.</i>	45(3)	432-439	2025
<u>Ambe K</u> , Aoki Y, Murashima M, Wachino C, Deki Y, Ieda M, Kondo M, Hibi Y, Kimura K, Hamano T, Tohkin M	Prediction of cisplatin-induced acute kidney injury using an interpretable machine learning model and electronic medical record information.	<i>Clinical and Translational Science</i>	18(1)	e70115	2025
Yoshida A, Hashimoto Y, Akane H, Matsuyama S, <u>Toyoda T</u> , Ogawa K, Saito Y, Kikura-Hanajiri R, Arakawa N	Analysis of stratifin expression and proteome variation in a rat model of acute lung injury.	<i>J Proteome Res</i>	24	1941-1955	2025

Takimoto N, Ishii Y, Mitsumoto T, Takasu S, Namiki M, <u>Toyoda T</u> , Shibutani M, Ogawa K	Involvement of nuclear atrophy of binucleated hepatocytes in the large micronucleus formation induced by rat hepatocarcinogen acetamide	<i>Toxicol Appl Pharmacol</i>	496	117243	2025
<u>Yamazaki D</u> , Ishida S.	Global expansion of microphysiological systems (MPS) and Japan's initiatives: Innovation in pharmaceutical development and path to regulatory acceptance	<i>Drug Metab Pharmacokinet</i>	60	101047	2025
Yokota S, Hashimoto K, Sato T, Uemura K, Makiyama K, <u>Nishimura T</u> , Kitajima S, Ogawa T	A long-term mouse testis organ culture system to identify germ cell damage induced by chemotherapy	<i>Curr Res Toxicol</i>	8	100228	2025
<u>Kojima H</u>	History of the Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) test guidelines for non-animal test methods in Japan.	<i>Genes Environ</i>	47	3	2025
<u>小島肇夫</u>	皮膚感作性評価法の変遷	<i>日皮協 ジャーナル</i>	93	59-64	2025
Akane H, <u>Toyoda T</u> , <u>Matsushita K</u> , Uneyama M, Morikawa T, Kosaka T, Tajima H, Aoyama H, Ogawa K	Comparisons of the sensitivity of histopathological and immunohistochemical analyses with blood hormone levels for early detection of antithyroid effects in rats treated with promoters of thyroid hormone metabolism	<i>Toxicol Pathol</i>			in press

Mathisen GH, Bearth A, Jones LB, Hoffmann S, Vist GE, Ames HM, Husøy T, Svendsen C, Tsaïoun K, <u>Ashikaga T</u> , Bloch D, Cavoski A, Chiu WA, Davies HG, Giusti A, Hartung T, <u>Hirabayashi Y</u> , Hogberg HT, Joglekar R, <u>Kojima H</u> , Krishnan K, Kwon S, Osborne OJ, Roggen E, Rooney AA, Rousselle C, Sass JB, Sepai O, Simanainen U, Thayer KA, Tong W, Wikoff D, Wright F, Whaley P.	Time for CHANGE: system-level interventions for bringing forward the date of effective use of NAMs in regulatory toxicology	<i>Arch Toxicol</i>	98	2299-2308	2024
<u>Ashikaga T</u> , Hatano K, Iwasa H, Kinoshita K, Nakamura N, <u>Ambe K</u> , Tohkin M	Next Generation Risk Assessment Case Study: A Skin Sensitization Quantitative Risk Assessment for Bandrowski's Base Existing in Hair Color Formulations	<i>Journal of Japanese Cosmetic Science Society</i>	48(2)	73-77	2024
<u>Ambe K</u> , Aoki Y, Murashima M, Wachino C, Deki Y, Ieda M, Kondo M, Hibi Y, Kimura K, Hamano T, Tohkin M	Machine learning-based in silico prediction of the inhibitory activity of chemical substances against rat and human cytochrome P450s	<i>Chem. Res. Toxicol.</i>	37(11)	1843-1850	2024

Watanabe T, <u>Ambe K</u> , Tohkin M	Streamlining Considerations for Safety Measures: Adverse Drug Reactions to Japanese Drug Package Inserts Using a Machine -Learning Modeage Inserts.	<i>Biol Pharm Bull</i>	47(3)	611-619	2024
Watanabe T, <u>Ambe K</u> , Tohkin M	Predicting the Addition of Information Regarding Clinically Significant Adverse Drug Reactions to Japanese Drug Package Inserts Using a Machine -Learning Model	<i>Ther Innov Regul Sci.</i>	58(2)	357-367	2024
Uneyama M, <u>Toyoda T</u> , Doi Y, <u>Matsushita K</u> , Akane H, Morikawa T, Ogawa K	A 13-week subchronic toxicity study of linalool oxide in Crl:CD(SD) rats.	<i>Journal of Toxicologic Pathology</i>	37	151-161	2024
Hashimoto K, Arakawa H, Imamura R, <u>Nishimura T</u> , Kitajima S, Sato T, Makiyama K, Ogawa T, Yokota S	A novel alternative method for long-term evaluation of male reproductive toxicity and its recovery using a pre-pubertal mouse testis organ culture system	<i>Journal of Applied Toxicology</i>	44(5)	784-793	2024
Kuwagata M, Doi Y, <u>Saito H</u> , Tsurumoto M, Igarashi T, <u>Nishimura T</u> , Taquahashi Y, <u>Hirabayashi Y</u> , Kitajima S	A 90-day repeated oral dose toxicity study of p-cymene in rats.	<i>Fundamental Toxicological Sciences</i>	11	169-181	2024
西村拓也, 直田みさき, 大久保佑亮, 平林容子	ICH S6 バイオ医薬品 の非臨床安全性評価 の見直しについて	医薬品医療 機器レギュ ラトリーサ イエンス	55(6)	423-425	2024
<u>西村拓也</u>	ICH-S11ガイドライ ンのWoEアプローチ における考慮事項	ファームテ クジャパン	40	523-525	2024

西村拓也, 西村次平, 伊藤かな子, 高橋祐次	医薬品開発における 非臨床安全性評価の 変遷	日本獣医史 学雑誌	61	41-58	2024
Nishida A, Sawada Y, Arai R, Ishibashi N, Suzuo M, Ohno A, <u>Ashikaga T,</u> Iijima K	Evaluation of the immunotoxicity potential of nanomaterials using THP-1 cells	<i>Front. Toxicol.,</i>	6	1293147	2024
平林容子, 足利太可雄, <u>小島肇夫</u>	非臨床安全性評価に 用いられる非ヒト霊 長類の供給不足をめ ぐる動き	医薬品医療 機器レギュ ラトリーサ イエンス	55(3)	195-197	2024
<u>小島肇夫</u>	動物実験代替法の歴 史	<i>Cosmetic Science</i>	10	56-63	2024
<u>足利太可雄</u>	化粧品開発における 動物を用いない皮膚 感作性評価法開発の 現状	<i>SSCI-Net News Letter</i>	6	3-6	2024
<u>足利太可雄,</u> 大野彰子, <u>小島肇夫,</u> <u>平林容子</u>	日本動物実験代替法 評価センター (JaCVAM) 令和4～6 年報告書	<i>AATEX- JaCVAM</i>	12(1)	35-41	2024

厚生労働大臣 殿

機関名 国立医薬品食品衛生研究所
所属研究機関長 職 名 所長
氏 名 本間 正充

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 化学物質リスク研究事業
2. 研究課題名 国内外で開発されOECDで公定化されるNAMを活用した試験法の行政的な受け入れに対応するための研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 安全性生物試験研究センター ・ センター長
(氏名・フリガナ) 平林 容子 ・ ヒラバヤシ ヨウコ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	☐	☒	☐		☐
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	☐	☒	☐		☐
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	☐	☒	☐		☐
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称：)	☐	☒	☐		☐

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。
(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 ☒ 未受講 ☐
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 ☒ 無 ☐ (無の場合はその理由：)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 ☒ 無 ☐ (無の場合は委託先機関：)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 ☒ 無 ☐ (無の場合はその理由：)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 ☐ 無 ☒ (有の場合はその内容：)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣 殿

機関名 国立医薬品食品衛生研究所
所属研究機関長 職 名 所長
氏 名 本間 正充

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 化学物質リスク研究事業
2. 研究課題名 国内外で開発されOECDで公定化されるNAMを活用した試験法の行政的な受け入れに対応するための研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 安全性生物試験研究センターゲノム安全科学部 ・ 第四室長
(氏名・フリガナ) 足利 太可雄 ・ アシカガ タカオ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	☐	☒	☐		☐
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	☐	☒	☐		☐
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	☐	☒	☐		☐
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称：)	☐	☒	☐		☐

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。
(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 ☒ 未受講 ☐
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 ☒ 無 ☐ (無の場合はその理由：)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 ☒ 無 ☐ (無の場合は委託先機関：)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 ☒ 無 ☐ (無の場合はその理由：)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 ☐ 無 ☒ (有の場合はその内容：)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣 殿

機関名 東京農業大学

所属研究機関長 職 名 学長

氏 名 江口 文陽

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

- 研究事業名 化学物質リスク研究事業
- 研究課題名 国内外で開発されOECDで公定化されるNAMを活用した試験法の行政的な受け入れに対応するための研究 (24KD2002)
- 研究者名 (所属部署・職名) 応用生物科学部食品安全健康学科・教授
(氏名・フリガナ) 美谷島 克宏 (ミヤジマ カツヒロ)

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無 有 無	左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
		審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	☐ 有 ☒ 無	☐		☐
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	☐ 有 ☒ 無	☐		☐
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	☒ 有 ☐ 無	☒	東京農業大学	☐
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称：)	☐ 有 ☒ 無	☐		☐

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 ☒ 未受講 ☐
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 ☒ 無 ☐ (無の場合はその理由：)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 ☒ 無 ☐ (無の場合は委託先機関：)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 ☒ 無 ☐ (無の場合はその理由：)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 ☐ 無 ☒ (有の場合はその内容：)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣 殿

機関名 国立医薬品食品衛生研究所
所属研究機関長 職 名 所長
氏 名 本間 正充

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 化学物質リスク研究事業
2. 研究課題名 国内外で開発されOECDで公定化されるNAMを活用した試験法の行政的な受け入れに対応するための研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 安全性生物試験研究センター病理部 ・ 部長
(氏名・フリガナ) 豊田 武士 ・ トヨダ タケシ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	☐	☒	☐		☐
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	☐	☒	☐		☐
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	☒	☐	☒	国立医薬品食品衛生研究所	☐
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称：)	☐	☒	☐		☐

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。
(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 ☒ 未受講 ☐
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 ☒ 無 ☐ (無の場合はその理由：)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 ☒ 無 ☐ (無の場合は委託先機関：)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 ☒ 無 ☐ (無の場合はその理由：)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 ☐ 無 ☒ (有の場合はその内容：)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣 殿

機関名 国立医薬品食品衛生研究所
所属研究機関長 職 名 所長
氏 名 本間 正充

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 化学物質リスク研究事業
2. 研究課題名 国内外で開発されOECDで公定化されるNAMを活用した試験法の行政的な受け入れに対応するための研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 安全性生物試験研究センター病理部 ・ 第三室長
(氏名・フリガナ) 松下 幸平 ・ マツシタ コウヘイ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	☐	☒	☐		☐
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	☐	☒	☐		☐
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	☒	☐	☒	国立医薬品食品衛生研究所	☐
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称：)	☐	☒	☐		☐

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。
(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 ☒ 未受講 ☐
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 ☒ 無 ☐ (無の場合はその理由：)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 ☒ 無 ☐ (無の場合は委託先機関：)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 ☒ 無 ☐ (無の場合はその理由：)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 ☐ 無 ☒ (有の場合はその内容：)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣 殿

機関名 国立医薬品食品衛生研究所
所属研究機関長 職 名 所長
氏 名 本間 正充

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 化学物質リスク研究事業
2. 研究課題名 国内外で開発されOECDで公定化されるNAMを活用した試験法の行政的な受け入れに対応するための研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 安全性生物試験研究センター毒性部 ・ 主任研究官
(氏名・フリガナ) 齊藤 洋克 ・ サイトウ ヒロカツ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	☐	☒	☐		☐
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	☐	☒	☐		☐
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	☒	☐	☒	国立医薬品食品衛生研究所	☐
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称：)	☐	☒	☐		☐

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。
(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 ☒ 未受講 ☐
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 ☒ 無 ☐ (無の場合はその理由：)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 ☒ 無 ☐ (無の場合は委託先機関：)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 ☒ 無 ☐ (無の場合はその理由：)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 ☐ 無 ☒ (有の場合はその内容：)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣 殿

所属研究機関長 機関名 公立大学法人 名古屋市立大学
職 名 理事長

氏 名 郡 健二郎

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

- 研究事業名 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）
- 研究課題名 国内外で開発され OECD で公定化される NAM を活用した試験法の行政的な受け入れに対応するための研究（24KD2002）
- 研究者名 （所属部署・職名） 薬学研究科 准教授
（氏名・フリガナ） 安部賀央里 アンベカオリ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無 有 無	左記で該当がある場合のみ記入（※1）		
		審査済み	審査した機関	未審査（※2）
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針（※3）	☐ 有 ☒ 無	☐		☐
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	☐ 有 ☒ 無	☐		☐
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	☐ 有 ☒ 無	☐		☐
その他、該当する倫理指針があれば記入すること （指針の名称： ）	☐ 有 ☒ 無	☐		☐

（※1）当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他（特記事項）

（※2）未審査の場合は、その理由を記載すること。

（※3）廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 ☒ 未受講 ☐
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 ☒ 無 ☐ （無の場合はその理由： ）
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 ☒ 無 ☐ （無の場合は委託先機関： ）
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 ☒ 無 ☐ （無の場合はその理由： ）
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 ☐ 無 ☒ （有の場合はその内容： ）

（留意事項） ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

令和7年4月11日

厚生労働大臣 殿

機関名 神奈川県衛生研究所

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 多屋 馨子

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

- 研究事業名 化学物質リスク研究事業
- 研究課題名 国内外で開発されOECDで公定化されるNAMを活用した試験法の行政的な受け入れに対応するための研究 (24KD2002)
- 研究者名 (所属部署・職名) 神奈川県衛生研究所 理化学部・主任研究員
(氏名・フリガナ) 大森 清美 ・ オオモリ キヨミ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無 有 無	左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
		審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	☐ 有 ☒ 無	☐		☐
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	☐ 有 ☒ 無	☐		☐
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	☐ 有 ☒ 無	☐		☐
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	☐ 有 ☒ 無	☐		☐

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 ☒ 未受講 ☐
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 ☒ 無 ☐ (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 ☒ 無 ☐ (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 ☒ 無 ☐ (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 ☐ 無 ☒ (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣 殿

機関名 国立医薬品食品衛生研究所
所属研究機関長 職 名 所長
氏 名 本間 正充

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 化学物質リスク研究事業
2. 研究課題名 国内外で開発されOECDで公定化されるNAMを活用した試験法の行政的な受け入れに対応するための研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 安全性生物試験研究センター薬理部 ・ 第二室長
(氏名・フリガナ) 山崎 大樹 ・ ヤマザキ ダイジュ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	☐	☒	☐		☐
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	☐	☒	☐		☐
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	☐	☒	☐		☐
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称：)	☐	☒	☐		☐

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。
(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 ☒ 未受講 ☐
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 ☒ 無 ☐ (無の場合はその理由：)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 ☒ 無 ☐ (無の場合は委託先機関：)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 ☒ 無 ☐ (無の場合はその理由：)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 ☐ 無 ☒ (有の場合はその内容：)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣 殿

機関名 国立医薬品食品衛生研究所
所属研究機関長 職 名 所長
氏 名 本間 正充

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 化学物質リスク研究事業
2. 研究課題名 国内外で開発されOECDで公定化されるNAMを活用した試験法の行政的な受け入れに対応するための研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 安全性生物試験研究センター毒性部 ・ 第三室長
(氏名・フリガナ) 西村 拓也 ・ ニシムラ タクヤ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	☐	☒	☐		☐
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	☐	☒	☐		☐
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	☐	☒	☐		☐
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称：)	☐	☒	☐		☐

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。
(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 ☒ 未受講 ☐
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 ☒ 無 ☐ (無の場合はその理由：)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 ☒ 無 ☐ (無の場合は委託先機関：)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 ☒ 無 ☐ (無の場合はその理由：)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 ☐ 無 ☒ (有の場合はその内容：)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣 殿

機関名 帝京平成大学

所属研究機関長 職 名 学長

氏 名 沖永 寛子

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

- 研究事業名 化学物質リスク研究事業
- 研究課題名 国内外で開発されOECDで公定化されるNAMを活用した試験法の行政的な受け入れに対応するための研究 (24KD2002)
- 研究者名 帝京平成大学健康医療スポーツ学部医療スポーツ学科動物医療コース・教授
中江 大・ナカエ ダイ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無 有 無	左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
		審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	☐ 有 ☒ 無	☐		☐
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	☐ 有 ☒ 無	☐		☐
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	☐ 有 ☒ 無	☐		☐
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	☐ 有 ☒ 無	☐		☐

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 ☒ 未受講 ☐
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 ☒ 無 ☐ (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 ☒ 無 ☐ (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 ☒ 無 ☐ (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 ☐ 無 ☒ (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。

厚生労働大臣 殿

機関名 山陽小野田市立山口東京理科大学

所属研究機関長 職 名 学 長

氏 名 武田 健

次の職員の令和6年度厚生労働科学研究費の調査研究における、倫理審査状況及び利益相反等の管理については以下のとおりです。

1. 研究事業名 化学物質リスク研究事業
2. 研究課題名 国内外で開発されOECDで公定化されるNAMを活用した試験法の行政的な受け入れに対応するための研究 (24KD2002)
3. 研究者名 (所属部署・職名) 工学部医薬工学科 教授
(氏名・フリガナ) 小島 肇 (コジマ ハジメ)

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		左記で該当がある場合のみ記入 (※1)		
	有	無	審査済み	審査した機関	未審査 (※2)
人を対象とする生命科学・医学系研究に関する倫理指針 (※3)	☐	☒	☐		☐
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	☐	☒	☐		☐
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	☐	☒	☐		☐
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	☐	☒	☐		☐

(※1) 当該研究者が当該研究を実施するに当たり遵守すべき倫理指針に関する倫理委員会の審査が済んでいる場合は、「審査済み」にチェックし一部若しくは全部の審査が完了していない場合は、「未審査」にチェックすること。

その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。
(※3) 廃止前の「疫学研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」、「人を対象とする医学系研究に関する倫理指針」に準拠する場合は、当該項目に記入すること。

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

研究倫理教育の受講状況	受講 ☒ 未受講 ☐
-------------	---

6. 利益相反の管理

当研究機関におけるCOIの管理に関する規定の策定	有 ☒ 無 ☐ (無の場合はその理由:)
当研究機関におけるCOI委員会設置の有無	有 ☒ 無 ☐ (無の場合は委託先機関:)
当研究に係るCOIについての報告・審査の有無	有 ☒ 無 ☐ (無の場合はその理由:)
当研究に係るCOIについての指導・管理の有無	有 ☐ 無 ☒ (有の場合はその内容:)

(留意事項) ・該当する□にチェックを入れること。
・分担研究者の所属する機関の長も作成すること。