

厚生労働科学技術研究費補助金

化学物質リスク研究事業

発生毒性リスク評価に資する

シグナル伝達かく乱作用を基にした NAMs の開発

(24KD1003)

令和 7 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 大久保 佑亮

令和 7 (2026) 年 5 月

目 次

I. 総括研究報告 (別紙3)	
発生毒性リスク評価に資するシグナル伝達かく乱作用を基にしたNAMsの開発 大久保 佑亮	1
II. 分担研究報告 (別紙4)	
1. リスク評価に向けたDynaLux/cの改良 大久保 佑亮 ・ 福田 淳二	13
2. In vitro-in vivo extrapolation(IVIVE)に向けた情報収集並び評価物質の選定 桑形 麻樹子	27
3. 多色ルシフェラーゼアッセイの構築 中島 芳浩	29
4. コンソーシアムの設立、国内外の合意形成 小島 肇	35
5. OECDテストガイドライン対応 平林 容子	37
III. 研究成果の刊行に関する一覧表 (別紙6)	40

発生毒性リスク評価に資するシグナル伝達かく乱作用を基にした NAMs の開発

研究代表者 大久保 佑亮

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 第四室 室長

化学物質が胚・胎児発生に及ぼす影響は、ヒトと実験動物の種差が大きいことが知られている。そのため、従来の発生毒性試験では複数の動物種を多数用いた動物実験を通じてヒトへの外挿性を高める手法が取られてきた。しかし、このような試験系は高コストであり、動物福祉の観点からも動物実験の代替法の開発が強く求められている。一方で、受精卵から胎児に至るまでの複雑な発生過程を細胞レベルで正確かつ網羅的に再現することは極めて困難であり、現在のところ実用に耐える in vitro 試験系は確立されていない。これまで我々は、胚・胎児発生が少数のシグナル伝達相互作用によって制御される点に着目し、化学物質のシグナルかく乱作用を基に発生毒性を評価する DynaLux/c を開発してきた。DynaLux/c は動物を用いた従来の発生毒性試験とは概念的に異なる細胞ベースの試験法であり、高い正確性と網羅性を有するだけでなく、96 穴プレートを用いて一週間程度で実験を完了できるため、高スループットかつ低コストという特徴を持つ。しかしながら、現在の段階ではハザード評価が主眼であり、化審法などの行政判断に必要なリスク評価に用いるには、毒性強度を定量評価できる指標を取得する必要がある。

本研究の目的は、DynaLux/c を改良し、ヒトへの外挿性が高くリスク評価にも活用できる新たな NAMs (New Approach Methods) を確立するとともに、公定化を目指すことである。具体的には、定量的な有害性評価指標を得る仕組みを構築し、将来的に OECD テストガイドライン(TG)として承認されるように研究を推進する。

本研究では、DynaLux/c にリアルタイム発光測定装置(KronosHT)を導入し、48 時間の連続した FGF シグナルの下流の血清応答因子のかく乱作用を計測した。溶媒対照に対する化学物質のシグナルかく乱面積を Area Between the Curve (ABC) として化学物質のシグナルかく乱作用を指標として用いた。陽性および陰性対照物質を評価した結果、陽性対照物質および陰性対照物質を用いた検討では、33 種中 32 種が既知分類と一致した。(ハザード評価)。また、リスク評価を可能とするために、各濃度の ABC 値を基に発生毒性を評価可能な解析法の開発に取り組んでいる。

DynaLux/c の更なる高精度化のため、従来の FGF シグナルのかく乱モニター用 NLuc に加え、測定ウェル間の補正および細胞毒性モニターとして用いる第二のルシフェラーゼ（内部標準ルシフェラーゼ）を導入する多色ルシフェレースアッセイ系の構築を行った。今年度は光学フィルターを用いて、両ルシフェラーゼの発光を定量的に同時測定できることを確認した。また、シグナルかく乱モニターに用いるプロモーターを検討した。

DynaLux/c の公定化を目指し、試験法の国際標準化に向けた取り組みも進めた。研究班はコンソーシアムを設立し、SOP（標準作業手順書）の作成、規制機関や業界団体との議論、OECD ガイドライン承認に向けた情報収集を実施した。また、これらの取り組みにより、DynaLux/c を国際的に受け入れられるリスク評価手法として確立するための基盤が整備されつつある。また、in vitro-in vivo extrapolation (IVIVE) に向けた情報収集並びに評価物質の選定を行った。

DynaLux/c が公定化されれば、動物実験の削減や審査コストの低減を実現し、新規化学物質の迅速な市場導入を可能にする。また、化学産業の競争力を強化し、規制科学におけるイノベーションを促進するとともに、持続可能な社会の構築に寄与する。本研究の成果は、化学物質の安全性評価における新たなパラダイムを提示し、科学的根拠に基づくリスク管理の進展に貢献するものである。

研究分担者

福田 淳二	横浜国立大学 教授
中島 芳浩	産業技術総合研究所 上級主任研究員
平林 容子	国立医薬品食品衛生研究所 センター長
桑形 麻樹子	帝京平成大学 教授
小島 肇	国立医薬品食品衛生研究所 特別研究員

研究協力者

Seo Jieun	横浜国立大学 助教
佐々木 大輔	産業技術総合研究 研究員
正田 卓司	国立医薬品食品衛生研究所 室長

A. 研究目的

化学物質による胚・胎児発生への影響は、ヒトと実験動物の種差が大きいことが知られている。そのため、従来の発生毒性試験では複数の動物種を多数用いた動物実験によってヒトへの外挿性を高めてきた。しかしながら、このような試験系は高コストであるうえに、動物福祉の観点からも動物実験代替法の開発が強く求められている。一方で、受精卵から胎児に至るまでの複雑な発生過程を細胞レベルで正確かつ網羅的に再現することは非常に困難であり、現在のところ実用に耐える *in vitro* 試験系は確立されていない。

そこで、我々は、胚・胎児発生が少数のシグナル伝達相互作用によって制御される点に注目し、化学物質のシグナルかく乱作用を基盤とした発生毒性評価法「DynaLux/c」を開発してきた(*iScience* 等)。DynaLux/c は、動物を用いた従来の発生毒性試験とは概念的に異なる細胞ベースの試験法であり、高い正確性と網羅性を有するだけでなく、96 穴プレートを用いて一週間程度で実験を完了できるため、高スループットかつ低コ

ストという特徴を持つ。しかしながら、現在の段階ではハザード評価が主眼であり、化審法などの行政判断に必要なリスク評価に用いるには、毒性強度を定量評価できる指標を取得する必要がある。

本研究の目的は、DynaLux/c を改良し、ヒトへの外挿性が高くリスク評価にも活用できる新たな NAM (New Approach Method) を確立するとともに、公定化を目指すことである。具体的には、定量的な有害性評価指標を得る仕組みを構築し、OECD テストガイドライン(TG)として承認されるように研究を推進する。化審法の審査においては、一般毒性(28 日間反復投与毒性)に加えて生殖発生毒性試験や発がん試験の情報が要求されるが、GLP 準拠の発生毒性試験や発がん試験は高コストかつ長期間を要するため、既存情報が十分に整っているとは言い難い。そのため、低コスト・短期間で信頼性の高い生殖発生毒性情報を提供可能な試験法の開発が強く望まれている。

本研究では、発生毒性評価の専門家(桑形麻樹子)、公定化に関する専門家(平林容子: JaCVAM)、業界団体および国際的な合意形成に関わる専門家(小島肇: 日化協 LRI 顧問)らが連携し、さらに産業技術総合研究所の佐々木大輔(若手)や横浜国立大学の Seo Jieun(若手・女性・国際性)などを含む研究体制を構築する。こうした専門知識を融合させることで、DynaLux/c の有害性評価値の導出を可能にし、最終的にはリスク評価が可能な *in vitro* 生殖発生毒性代替法として確立することを目指す。

この新たな試験法が公定化されれば、行政判断に必要な有害性データを効率的に取得できるようになり、動物実験の削減や審査コストの軽減につながるだけでなく、新規化学物質の適切なリスク管理の下での迅速な上市を促進することが期待される。さらに、化学産業や規制当局における国際競争力を強化し、産業界のイノベーションを支えながら社会の持続的発展に寄与する可能性がある。

B. 研究方法

DynaLux/c の概要

DynaLux/c は発生生物学の観点から発生毒性評価を試みた NAMs である。受精卵から胎児に至るまでの複雑な形態形成は、細胞の増殖・分化・相互作用などを介し、適切に制御されている。加えて、偶発的な細胞死や遺伝子発現などの内因性及び、化学物質曝露のような外因性のノイズに対する抵抗性もまた適切な発生には重要である。これまでの研究から、形態形成とノイズ抵抗性はシグナル伝達の相互作用により連結され、発生過程を制御していることが明らかになっている(図 1a)。

動物試験では、主に胎児の形態異常を基に化学物質の毒性を評価している(図 1b)。その毒性機序を考えると、化学物質がシグナル伝達相互作用をかく乱し、その結果として生じた形態異常を観察していると考えられる(図 1c)。そこで我々は、このシグナル伝達相互作用のかく乱を計測することで発生毒性を予測できると考え、リアルタイムルシフェーセンスアッセイを用いたレポーターア

ッセイを確立した。これまでに、ヒト iPS 細胞を用いて 5 種類 (FGF シグナルは 2 種類、WNT シグナル、BMP シグナル、TGF- β シグナルは各 1 種類) のレポーター系を樹立した。各レポーターとリガンドの組合せを検討し、レポーターの反応性を確認した。その中で最も発光強度が強くシグナルかく乱に対する感度が高い、FGF シグナルレポーターのうち血清応答因子 (Serum Response Factor: SRF) のレポーターアッセイ系を選定した(図 1d)。その特徴は、代表的なホタルルシフェーセンスに比べ約 100 倍明るく iPS 細胞での生細胞ルシフェーセンスアッセイが可能な NLuc を発光レポーターとして用いたことである。また、培養をしながらリアルタイム発光計測が可能なリアルタイム発光測定装置(Kronos HT)を組み合わせることで、細胞播種から試験終了まで 1 週間で終了するハイスループットな試験系を構築した。

実際のシグナルかく乱試験は、レポーターヒト iPS 細胞を 96 穴プレートに播種しコンフルエントまで培養する。その後、試験物質を最高溶解度もしくは IC_{65} 以下の濃度を最高濃度として 1/2 ず

発生毒性評価法のNAMであるDynaLux/c

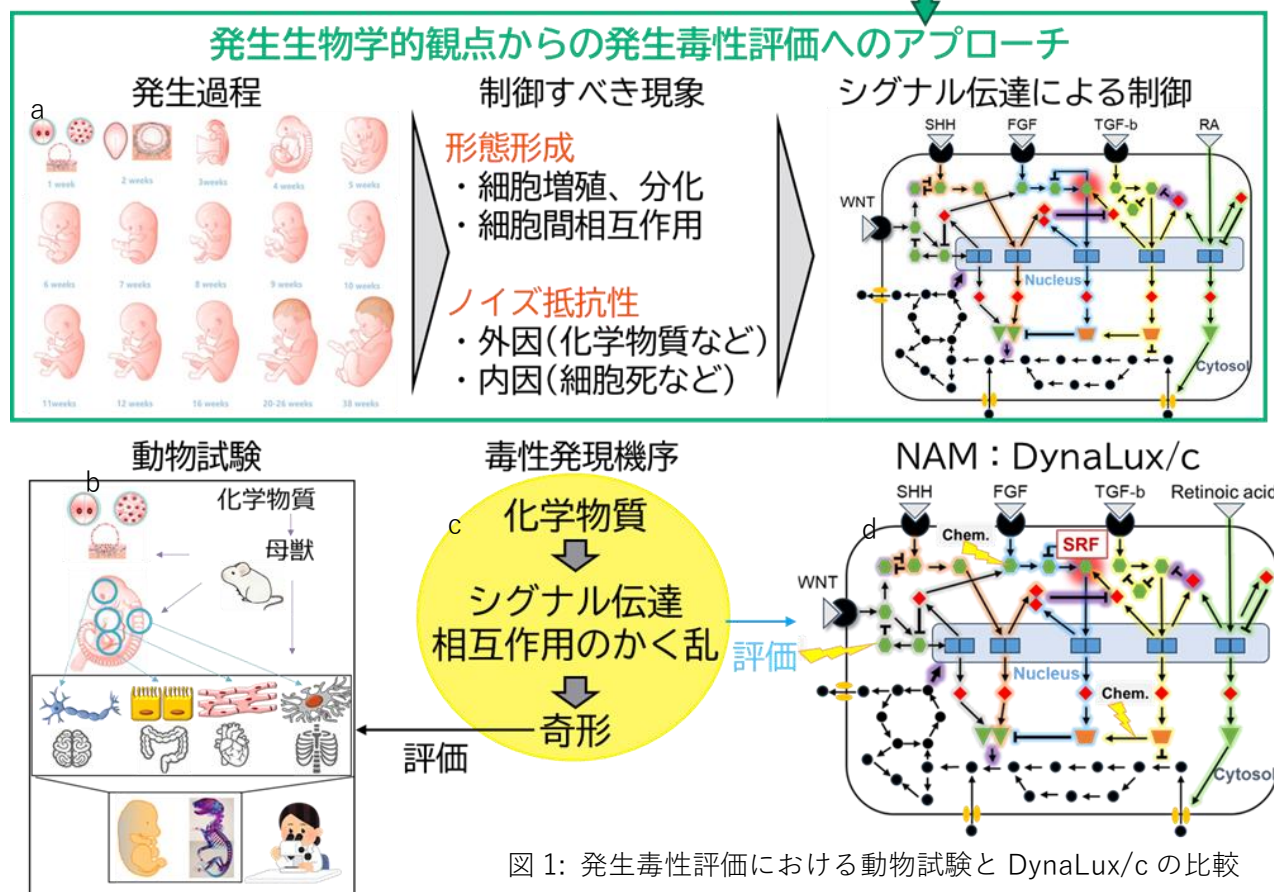


図 1: 発生毒性評価における動物試験と DynaLux/c の比較

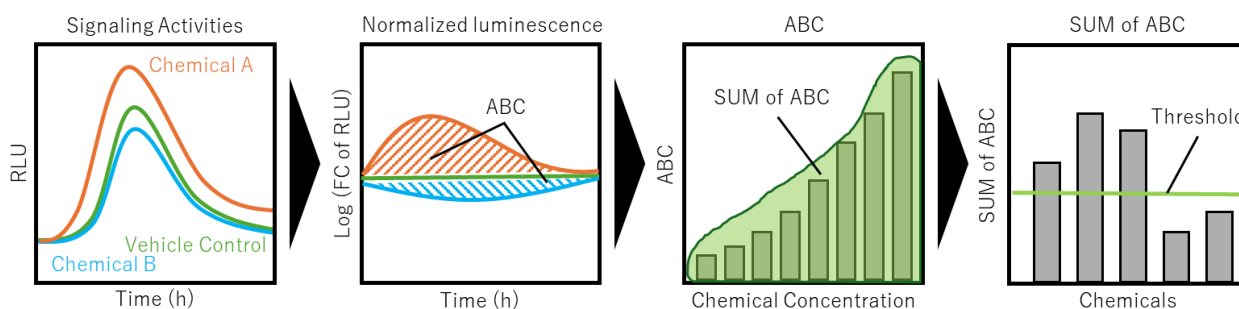


図 2: DynaLux/c によるシグナルかく乱作用の数値化

つ 8 段階の濃度を培地に適用し、48 時間リアルタイムルシフェーラスアッセイを行う。化学物質のシグナルかく乱作用を比較するために、溶媒対照群に対する試験物質のシグナルかく乱面積 (Area between the curve: ABC) を各濃度で求め、それらの和をシグナルかく乱作用の値とした (Sum of ABC)。ROC 曲線解析により閾値を設定し、発生毒性陽性と陰性を分類する (図 2)。

B-1. DynaLux/c による発生毒性物質のハザード評価並びにリスク評価法の開発。

標準作業手順書 (Standard Operating Procedure: SOP) の改良. (大久保・福田)

昨年度は陽性対照物質 14 種 (サリドマイド (THA)、バルプロ酸ナトリウム (VPA)、メトトレキサート (MTX)、レナリドミド (LEN)、メトキシ酢酸 (MAA)、サリチル酸ナトリウム (SA)、ヒドロキシウレア (HU)、レチノイン酸 (RA)、ホウ酸 (BA)、フルオロウラシル (5FU)、塩化リチウム (LiCl)、ブロモデオキシウリジン (BrdU)、5,5-ジメチル-2,4-オキサゾリジンジオン (DMO)、ジフェンヒドラミン (DHM))、陰性対照物質 5 種 (ペニシリン (PenG)、サッカリン (SAC)、シメチジン (CM)、D-カンファー (CAM)、ジメチルフタラート (DMP)) を評価した。

今年度は、陽性対照物質 9 種 (メチル水銀 (MeHg)、有機フッ素化合物 (PFAS) である PFAS ペルフルオロオクタタン酸 (PFOA)、ペルフルオロオクタンスルホン酸 (PFOS)、コロナ治療薬であるモルヌピラビル (MOV)、レムデシビル (RDV)、エン

シトレルビル (ENS)、バリシチニブ (BARI)、抗がん剤であるドキソルビシン (DOXO)、エトポシド (ETP))、陰性対照物質 5 種 (アクリルアミド (AcA)、サキサグリプチン (SAXA)、ビルダグリプチン (VILD)、ニルマトレビル (NMV)、リトナビル (RTV)) を引き続き試験した。

これまでの研究において 33 種類の試験データが蓄積してきた。これらのデータからリスク評価法の開発を進めた。

また、B-4 に詳細を示すコンソーシアムの参加機関への技術移転を目的として SOP を改良した。この SOP はコンソーシアム参加者に配布され、DynaLux/c の導入に関する意見が収集された。

B-2. in vitro-in vivo extrapolation (IVIVE) に向けた情報収集並びに評価物質の選定 (桑形)

今年度は、研究代表者が既に Kronos HT を用いた DynaLux/c システムで評価した 9 化合物 (5-フルオロウラシル、ホウ酸、シメチジン、ジメチルフタラート、レナリドミド、塩化リチウム、メトトレキサート、ベンジルペニシリン (ペニシリン G)、サッカリン) について、臨床および非臨床試験情報を収集した。すなわち、公開されている情報 (PMDA による審査報告書、科学論文、インタビューホーム、薬剤添付資料) を調査した。

B-3. 多色リアルタイムルシフェーラスアッセイの構築 (中島)

DynaLux/c のさらなる高精度化を目的として、従来のシグナルかく乱モニター用ルシフェラー

ゼ (NLuc) に加え、測定ウェル間の補正および細胞毒性モニターとして機能する第二のルシフェラーゼ (内部標準ルシフェラーゼ) を導入した多色ルシフェラーゼアッセイ系の構築を試みた。内部標準ルシフェラーゼには、NLuc とは異なる発光基質で発光する甲虫由来の赤色発光ルシフェラーゼを用い、これら 2 種のルシフェラーゼを導入した iPS 細胞を樹立した。さらに昨年度に検討した光学フィルターを用いて多色リアルタイム発光測定を試みた。またこれらの取り組みに加えて、シグナルかく乱モニターに用いるプロモーターについても検討を行った。

B-4. コンソーシアムの活動(小島)

発生毒性試験代替法 DynaLux/c の経済協力開発機構 (OECD)における国際標準化及び医薬品規制調和国際会議 (ICH) における当該試験を用いたリスク評価法の認知を目的に、本研究班の中に業界団体等の意見反映及びプロトコルの技術移転性を確認するためのコンソーシアムを設立した。

第三回コンソーシアム会議を令和 7 年 12 月 15 日 (月) キングスカイフロント川崎生命科学・環境研究センター 殿町サロンで開催した。班員に加え、厚生労働省、独立行政法人医薬品医療機器総合機構 (PMDA)、業界団体の専門家、試験法の開発協力者及び技術移転希望者 (オブザーバー) などに参加を依頼した。

B-5 公定化に向けた情報収集(平林)

欧米を中心に、化学物質等の安全性やリスク評価において、試験動物を使用しない評価法へのパラダイムシフトが加速されつつある現状と、その行政的受け入れに関する国内外の状況の把握を目的として、規制関連国際会議 (OECD Advisory Group on Emerging Science in Chemicals Assessment (ESCA) (3/31-4/1、パリ (うち 4/1PM は WNT-37 との合同会議)、OECD Working Group of National Co-ordinators of the Test

Guidelines Programme (WNT)-37 (4/1-4、パリ)、OECD Working Party on Hazard Assessment (WPHA) (6/24-26、web)、Global Coalition for Regulatory Science Research (GCRSR) & Global Summit on Regulatory Science (GSRS)25 (9/15-17、ローザンヌ)) や、国際毒性学会 (10/15-18、中国)、国内関連学会 (日本実験動物学会 (5/21-23、名古屋)、日本毒性学会 (7/2-4、沖縄)、レギュラトリーサイエンス学会 (9/5-6、東京)) に参加し、それぞれの発表の聴講や、意見交換を通じて、必要な情報の収集を行った。

(倫理面への配慮)

該当なし。

C. 研究結果及び考察

C-1. DynaLux/c による発生毒性物質のハザード評価並びにリスク評価法の開発.

標準作業手順書 (Standard Operating Procedure: SOP)の改良. (大久保・福田)

試験の成立には 96 穴プレートの各 Well の細胞密度が重要な要素である。そのため、昨年度に作成した SOP では、培養スケジュールの厳格な管理、96 穴プレートのエッジ効果の抑制、細胞培養時の温度の維持の 3 点を厳格化することで細胞密度の均一化を試み、施設内において再現性の高い波形データを得られるようになった。今年度は円滑な施設間の技術移転を見据え、さらなる技術的な課題を抽出し、SOP の改良を行った。まず、試験に使用しない 96 穴プレートの外周の Well にもレポーター細胞を播種することで、Well 間のシグナル波形が安定した。次に、ヒト iPS 細胞では継代ごとに倍化時間が変動することがあり、播種細胞数をそろえるだけでは、細胞密度の安定には不十分であることが分かった。そこで、施設内の背景データと直前の細胞倍化データから、播種細胞

数を補正することで、細胞培養の安定性が向上した。

次に DynaLux/c による化学物質のシグナルかく乱作用を測定した。図 2 に示した手法で、試験物質の各濃度のかく乱面積 (Area between the curve: ABC) からシグナルかく乱作用を数値化すると共に、これらの ABC の和 (Sum of ABC) を求めた。ROC 曲線解析により閾値を設定し、陽性対照物質 23 種と陰性対照物質 10 種を 97% の正確度で分類可能であった。

一方で、陽性対照物質である HU、DMO、ENS と、陰性対照物質である SAXA、VILD は、Sum of ABC 値が近接しており、試験実施環境によっては判定結果が変動する可能性が示唆された。これは、DynaLux/c における試験濃度設定が、培地中での溶解性や細胞毒性といった化学物質固有の特性に依存するためと考えられる。例えば、SAXA および VILD については、ICH S5 (R3) の添付資料に記載された Cmax がそれぞれ 0.024 µg/mL および 0.524 µg/mL であるのに対し、本試験における最高試験濃度は 500 µg/mL および 250 µg/mL であり、臨床曝露量と比較してそれぞれ 20833 倍および 477 倍に相当する。つまり、化学物質によっては溶けにくい、もしくは溶けすぎるという課題が生じている。したがって、DynaLux/c を用いたハザード評価にあたっては、試験系の感度のみならず、実際の曝露レベルを踏まえた解釈が重要である。なお、アクリルアミドは偽陽性と判断された唯一の誤判定であった。既存の毒性情報を基に考察すると、アクリルアミドは精巣毒性を有する生殖毒性物質であり、妊娠動物では母毒性および胚・胎児致死作用が認められる一方、生存胎児に形態異常を含む発達影響は認められないことから、催奇形性なしと分類されている。本剤のように母動物の感受性範囲が狭く胚・胎児致死作用のみが認められる化学物質が他にないかという点にも留意をしていく予定である。

本研究の目的は、DynaLux/c を改良し、ヒトへの外挿性が高くリスク評価にも活用できる新たな NAMs を確立することである。そこで、これまで得られたデータを基に DynaLux/c のリスク評価法の開発を進めた。33 種の化学物質の ABC 値を比較したところ、陰性対照物質では VILD と SAXA の高用量群以外の物質は ABC 値が押しなべて低いこと、陽性対照物質の多くは用量相関を示すこと、明確な用量相関を示さない物質においても、陰性対照物質の ABC 値に比べ高い値を示すことが示唆された。現在、これらの結果を基にしたリスク評価法の開発を進めており、リスク評価法としての有用性を検証している (詳細は次年度に報告する)。

これらの結果は、DynaLux/c においても、Point of Departure (PoD) の設定が可能かもしれないことを示唆している (図 8)。班員やコンソーシアムのメンバーと協議しながら、IVIVE を考慮したリスク評価への道筋をつけ、公定化に向けた協議を続ける。

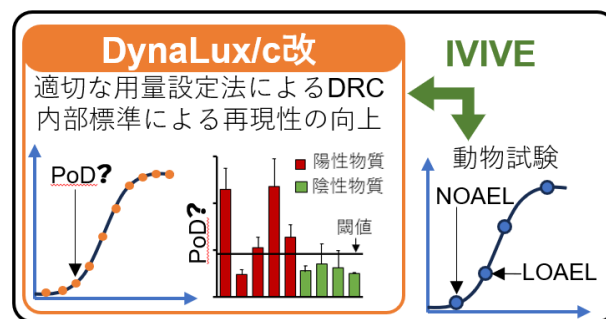


図 8: IVIVE に向けた計画の概要

C-2. IVIVE に向けた情報収集並び評価物質の選定(桑形)

昨年度から継続して、DynaLux/c システムで既に評価をしている 9 化合物 (5-フルオロウラシル、ホウ酸、シメチジン、ジメチルフタラート、レナリドミド、塩化リチウム、メトトレキサート、ベンジルペニシリン (ペニシリン G)、サッカリン) について、臨床および非臨床試験情報を収集した。すなわち、臨床試験では臨床使用用量および薬物動態結果が入手可能であった。また、非臨床試験

では薬物動態にあわせ、各種毒性試験（急性、亜急性、生殖発生毒性試験）の結果を収集した。各種毒性試験報告書は入手不可能なために、詳細な毒性情報（程度及び頻度など）に関しては限られた情報による収集評価となった。

次年度も継続して調査を継続しながら、化合物数を増やす予定であるが、その選択方法については研究代表者と精査する。

C-3. 多色リアルタイムルシフェーラスアッセイの構築（中島）

これまでの DynaLux/c では、シグナルかく乱モニター用のルシフェラーゼとして、発光基質 Endurazine を用い青色に発光する NLuc を採用している。今回、第二のルシフェラーゼ（内部標準ルシフェラーゼ）として、NLuc と最大発光波長が最も離れ、異なる発光基質（D-ルシフェリン）で発光する赤色発光ルシフェラーゼ（SLR3、以下赤色ルシフェラーゼと記載）を選定した。昨年度、血清応答配列（serum response element、SRE）制御下で NLuc を、恒常的プロモーター（elongation factor1 α ）制御下で赤色ルシフェラーゼを同時に発現するヒト iPS 細胞を樹立した。今年度は、この細胞を用いて多色リアルタイム発光測定を実施した。まず、NLuc と赤色ルシフェラーゼの発光強度を指標に、D-ルシフェリンの至適濃度を決定した。次に、両者の発光を同時測定できるかを検討するため、ショートパスフィルターとロングパスフィルターを併用し、発光の分離を試みた結果、定量的に両ルシフェラーゼの発光を分離できることが明らかとなった。さらに、FGF 添加による FGF シグナル活性化時の発光を測定したところ、NLuc の発光強度は顕著に増加する一方、赤色ルシフェラーゼの発光強度は一定に保たれた。この結果から、両ルシフェラーゼの発光を定量的に同時測定できることを確認した。

なお、iPS 細胞において、本研究で実施しているような転写因子応答配列の応答をモニターするレポーターアッセイの報告はほとんどなく、そ

のためこの目的に適したプロモーターも知られていない。現状では、当該研究ではプロメガ社製のミニプロモーターを使用しているが、さらに応答性に優れ、高い発光強度が得られるプロモーターの探索を行った。具体的には、3 種類の最小プロモーター（SV40、CMV、AdMLP プロモーター由来）を SRE と NLuc の間に挿入したベクターを作製し、これを導入した iPS 細胞株を樹立した。FGF 添加により、これまで使用している細胞と応答性および発光強度をリアルタイム発光測定で比較した結果、検討した 3 種類のプロモーターはいずれも現在使用しているミニプロモーターを上回ることではなく、現状ではミニプロモーターが最も適していることが明らかとなった。

さらに、DynaLux/c で観察される FGF シグナル活性化の細胞間同期性を検討するため、高感度 CCD カメラを用いたシングルセル発光イメージングを行った。SRE-NLuc を発現するヒト iPS 細胞について各細胞の発光強度を経時的に解析した結果、一部の細胞では非同期的な挙動が認められたものの、大部分の細胞は測定開始約 4 時間後にピークを示す共通した発光キネティクスを示した。このことから、DynaLux/c で観察される FGF シグナル応答は、主として細胞集団内で同期的に生じる現象であることが明らかとなった。

C-4. コンソーシアムの活動（小島）

本年度第三回コンソーシアム会議には、班員 6 名、厚生労働省から 2 名、PMDA から 1 名、大学関係者 2 名、日本製薬工業協会から 1 名、一般社団法人日本安全性試験受託研究機関協議会から 5 名、一般社団法人日本化学工業協会から 2 名、日本化粧品工業会から 1 名及びクロップライフジャパン（旧 JCPA 農薬工業会）から 2 名、オブザーバー 5 名の合計 27 名が対面または web で参加した。会議では、班員による DynaLux/c の有用性、権利、ライセンス及び SOP の改定に関する説明の後、技術講習会と技術移転に向けた条件や日程、予算について種々の意見交換がなされた。

結果として、来年度の技術講習会と技術移転に関する予定を大まかではあるが決定できた。

C-5. 公定化に向けた情報収集（平林）

OECD では、WNT が主体となり、現在 OECD 試験法の公定化に関するガイダンスドキュメント（GD34、2005 年発布）の改訂作業が行われている。これまで一つの試験法が開発されてガイドラインとして認証されるまで 10 年ほどの時間を要しているところ、信頼性を損なうことなく、諸々の必要とされるリソースを最小化するための改訂を目指している。in vitro 試験については、OECD への提案までに準備すべき点を明確化することで、OECD での議論の時間の短縮が期待される一方、試験法開発から公定化までの総時間の短縮は開発者側の取組に委ねられること、in silico 試験法については、FDA における原案作成が遅延しているものの、当該試験法の記述要領としての QMRF が制定されたことから、このものの利活用が図られるであろうこと、などの進捗があった。なお、行政利用に耐える信頼性確保のための試験法の評価手法そのものの議論もさることながら、validation に必要とされる経費も無視できない課題であり、包括的なガイダンスの成立が期待されている。

GSRS は各国の規制当局関連機関の連絡会議であり、GSRS 25 のテーマは“Building a Strong Regulatory Science with Tomorrow ’ s Technologies”として、これまで以上に規制利用を念頭に置いた AI の利活用に関する発表が多く見受けられた。昨年度 GSRS24 のテーマは“Digital Trans-formation in Regulatory Science”、次年度 GSRS26 のテーマは“Emerging Technologies and Intelligent Regulation”であり、一貫して新興技術の動向を把握し、如何に規制への利活用を図るかという点に主眼がおかれている。引き続き情報の収集に努めたい。

国際毒性学会並びに国内学会については、いずれも、シンポジストとして、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 日本動物実験代替法評価センター（JaCVAM）における、所内外機関が開発した新たな試験法の公定化支援や、新たに公定化された OECD ガイドラインの本邦での行政受入提案といった活動を基軸として、海外状況、国内対応状況や導入に向けた今後の課題などについて紹介した。

D. 結論

本研究は、DynaLux/c を改良し、ヒトへの外挿性が高くリスク評価にも活用できる新たな NAMs を確立するとともに、公定化を目指すことである。

今年度の研究の成果として、施設間の技術移転を円滑にするために SOP を改良した。昨年度に引き続き DynaLux/c を実施し、本年度までに陽性対照物質 23 種、陰性対照物質 10 種のハザード評価を行い 97% の正確度で分類可能であった。唯一の偽陽性となったアクリルアミドは、母動物の感受性範囲が狭く胚・胎児致死作用のみが認められる化学物質であり、評価には慎重を期す必要がある。現在、これらの結果を基にしたリスク評価法の開発を進めており、リスク評価法としての有用性を検証している

さらに、試験法の精度向上を目的として多色ルシフェレースアッセイの構築に取り組み、異なる発光基質を用いた複数シグナルのリアルタイム測定手法を確立した。これにより、試験精度が向上するとともに、細胞毒性や測定誤差を補正するための新たな内部基準が導入可能となった。また、シングルセル発光イメージングにより、DynaLux/c で検出される FGF シグナル応答が、主として細胞集団内で同期的に生じることを明らかにした。

国際的な規制受容を目指し、コンソーシアムを設立し、試験法の標準化に向けた議論を進めた。国内外の規制機関や関連団体との連携を強化し、試験法の OECD ガイドライン承認に向けた基盤を構築した。また、動物実験代替法の国際動向を

踏まえ、DynaLux/c をリスク評価に適用可能な試験法として認知させるための情報収集を実施した。

DynaLux/c が公定化されれば、化学物質の適切なリスク評価を効率的に行うことが可能となり、動物実験の削減、審査コストの低減、新規化学物質の迅速な市場導入が期待される。本研究の成果は、規制科学の進展に寄与するとともに、化学物質の安全性評価における新たなパラダイムを構築する一助となる。

E. 研究発表 論文発表

1. Murayama K., Mizota K., Matsuura R., Okubo Y., Nakajima Y., Suzuki A., Fukuda J.: Developmental Toxicity Assay Based on Real-Time Monitoring of Fibroblast Growth Factor Signal Disruption in Human Induced Pluripotent Stem Cells. *J. Vis. Exp.* (224), e68910, doi:10.3791/68910 (2025).
2. Uezato, Y., K. Morisawa, S. Sakamoto, Y. Nakajima, I. Kameshita and Y. Sugiyama (2025). "Analysis of diurnal variation of tyrosine kinases in mouse peripheral tissues using Multi-PK antibody." *Journal of Electrophoresis* 69(1): 1-7. doi.org/10.2198/jelectroph.69.1
3. Kenji Ohya, Shouhei Hirose, Kohei Nishikaku, Takahiro Ohnishi, Kenichi Lee, Sunao Iyoda, Akiko Kubomura, Yukihiro Akeda, Katsumi Mizukami, Tomikatsu Suzuki, Kenji Takinami, Yuhji Taquahashi, Makiko Kuwagata, Satoshi Kitajima, Takashi Inoue, Yukiko Hara-Kudo. Genomic features and pathogenicity of atypical diarrheagenic *Escherichia coli* from a large foodborne outbreak *International Journal of Food Microbiology* 434 (2025) 111134-
4. Miyata, R., M. Suzuki, Y. Okazaki, D. Abe and Y. Nakajima (2025). "Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-Gamma Activation by an Active Compound in *Lythrum anceps* (Koehne) Makino." *J Cell Biochem* 126(2): e70009. doi.org/10.1002/bio.70312
5. Miyata, R., Y. Tabei, H. Abe, K. Utsumi, S. Fukuzaki, S. Azuma, Y. Takaishi, T. Kato and Y. Nakajima (2025). "Analysis of Active Components and NRF2 Activation in Olive Leaf Pressurized Water Extract." *Luminescence* 40(9): e70312. doi.org/10.1002/jcb.70009
6. Xi Chen, Asadur Rahman, Kento Kitada, Yaoyu Wang, Yoshihiro Nakajima, Changjin Liu, Rikiya Taoka, Akira Nishiyama, High salt-induced osmotic stress differentially modulates hepatocellular and renal carcinoma cell proliferation. *Front. Oncol.*, in press.
7. Murakami, R., Imanura, M., Takeshita, T., Kojima, H. and Hikida Y. Consensus model for skin sensitization assessment using a rule-based model and LLNA and GPMT statistics-based model, *Computational Toxicology*, 2025,34, 100348
8. 小島肇夫. NAMs の開発, *Cosmetic Science*, 2025;6:28-35.
9. 小島肇夫. 動物実験代替法を用いた皮膚刺激性／皮膚感作性評価の現状、皮膚の測定評価と可視化、イメージング技術、(株) 技術情報協会、東京、pp. 283-294, 2025
10. 小島肇夫. EpisensA を用いた皮膚感作性試験代替法の使用判断、*COSMETIC STAGE*, 2025, 8,68-74.
11. 小島肇. コラム 代替法の規制利用の現状と限界、民事法研究会、動物共生権、東京、70-173、2025
12. JE. Yun, J. Seo, J. Koh, SA. Im, KY. Hong, Y. Son, DW. Jeong, J. Fukuda, JW. Park, YS. Chun, Cancer Manipulates Adjacent Adipose Tissue to Exploit Fatty Acids via HIF-1 α /CCL2/PPAR α Axis: A Metabolic Circuit to Support Tumor Progression, *Advanced Science* (IF=14.1), e15186 (2025) doi.org/10.1002/adv.202515186
13. T. Asaba, S. Hamano, A. Nanmo, J. Seo, T. Kageyama, J. Fukuda, Human iPSC-Derived Cerebral Organoids Reveal Oxytocin-Mediated Protection Against Amyloid- β Pathology, *Regenerative Therapy* (IF=3.4), 30, 259-267 (2025)
14. T. Kageyama, J. Seo, L. Yan, S. Hamano, J. Fukuda, Serotonin activates dermal papilla cells and promotes hair growth, *Scientific Reports* (IF=3.8), 15, 24525 (2025) doi: 10.1038/s41598-025-10716-5

15. T. Asaba, T. Osaki, K. Murayama, S. Hamano, T. Kageyama, J. Fukuda, Effects of vascular endothelial cells on the neurite outgrowth of nerve cells, *Journal of Bioscience and Bioengineering* (IF=2.3), 140, 3, 168-173 (2025) doi.org/10.1016/j.jbiosc.2025.05.010
16. Y. Migita, T. Kageyama, N. Ito, N. Esaka, A. Nanmo, J. Seo, Y. Lei, S. Hamano, and J. Fukuda, Preparation of hair follicle germs using centrifugal forces for hair regenerative medicine, *Journal of Bioscience and Bioengineering* (IF=2.3), 139, 6, 445-450 (2025) doi.org/10.1016/j.jbiosc.2025.04.002
17. DW. Jeong, JE. Yun, KH. Lee, GH. Moon, KY. Hong, JW. Park, J. Fukuda, YS. Lee, YS. Chun, Comprehensive understanding of context-specific functions of PHF2 in lipid metabolic tissues, *Scientific Reports* (IF=3.8), 15, 9074 (2025) doi.org/10.1038/s41598-025-93438-y
18. J. Seo, K. Matsumoto, A. Nanmo, S. Tu, DW. Jeong, YS. Chun, L. Yan, T. Kageyama, J. Fukuda, The role of lipids in promoting hair growth through HIF-1 signaling pathway, *Scientific Reports* (IF=3.8), 15, 4621 (2025) doi.org/10.1038/s41598-025-88697-8
19. S. Tu, T. Kageyama, J. Seo, Y. Zhou, J. Fukuda, Development of in vitro hair pigmentation model using hair follicle organoids, *Journal of Bioscience and Bioengineering* (IF=2.3), 139, 2, 141-146 (2025) doi.org/10.1016/j.jbiosc.2024.11.003
20. 久木友花, 関根秀一, 田村亜紀子, 中川翔太, 額田祐子, 齋藤和智, 小野 敦, 栗形麻樹子, 廣田衛彦, 豊田明美, 畑尾正人, 高橋祐次, 足利太可雄, 山田隆志. 医薬部外品申請におけるNext Generation Risk Assessment (NGRA) の活用に向けた事例研究-リードアクロスによる2-Isobutoxyethanolの発生毒性予測- 日本化粧品学会誌Vol.49(4), 264-274 (2025)
21. Matsushita K, Tsuji G, Akane H, Ishii Y, Takasu S, Ogawa K, Ito T, Yokoo H, Sennari G, Iwatsuki M, Hirose T, Hanaki H, Demizu Y, Hirabayashi Y, Saito Y, Honma M, Toyoda T: A 28-day subacute toxicity study of puberulic acid in Crl:CD(SD) rats. *J Toxicol Pathol* 2025, 38:223-36.
22. Inoue K., Hirabayashi Y., Azuma K.: Detailed hazard assessment of ethylbenzene to establish an indoor air quality guideline in Japan. *Environ Health Prev Med.* 2025;30:34.
23. Miyata, R., Suzuki, M., Okazaki, Y., Iwai, KI., Nishiwaki, N. and Nakajima Y. “Takeda G protein-coupled receptor 5 and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activation by pinocembrin and pinostrobin isolated from *Lindera sericea*.” *Int. J. Mol. Sci.* (2026) 27, 2045.
24. Seki, K., Kariya, K., Miyata, R., Sasaki, D., Kobayashi, Y., Ueno, K., Yanagita, R., Tahara, Y., Nakajima, Y. and Ishihara, A. “Identification of new cyclocircadins from *Cyclocybe erebia* and their effects on the circadian rhythm of human osteosarcoma cells.” *J. Nat. Prod.* (2026) 89, 421-432.
25. Sasaki, D., Kusamori, K., Itakura, S., Abe, H., Nakajima, Y. and Nishikawa, M. “Future prospects for edible plant-derived nanoparticles as new functional food ingredients.” *Food Sci. Technol. Res.* (2026) 3, 219-233
26. Watthaisong, P., Kantiwiriyanitch, C., Jitkaroon, W. Phintha, A., Klayparn, I., Lawan, N., Kamutira, P., Sasaki, D., Visitsatthawong, S., Maenpuen, S., Tinikul, R., Sucharitakul, J., Nishihara, R., Niwa, K., Nakajima, Y., Ohmiya, Y. and Chaiken, P. “Red-shifted d-luciferin analogues and their bioluminescence characteristics.” *RSC Chem. Biol.* (2026) 7, 67-80.
- 27.

学会発表

1. Okubo Y., Mizota K., Murayama K., Matsuura R., Mootha A., Kitajima S., Hirabayashi Y., Nakajima Y., Fukuda J.: Continuous Monitoring of Signal Disruption in Human iPSCs for Developmental Toxicity Assay. 20th INTERNATIONAL CONGRESS OF DEVELOPMENTAL BIOLOGY(2025.6.18)San Juan
2. Okubo Y., Murayama K., Matsuura R., Mootha A., Hirabayashi Y., Nakajima Y., Fukuda J.: Real-time Monitoring of Signal Disruption in Human iPSCs for Toxicity Assay. Joint Meeting of JSCB 77th & JSDB 58th(2025.7.16-17)名古屋
3. 村山航己, 佐藤 花音, 松浦利絵子, Archana

- Mootha, 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指標による精巣毒性物質の評価、第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025.7.2) 沖縄
4. 佐藤花音, 村山航己, 松浦利絵子, Mootha Archana, 平林容子, 中島芳浩, 大久保佑亮, 福田淳二: ヒト iPS 細胞を用いた新型コロナウイルス感染症治療薬のシグナルかく乱を基にした発生毒性評価、第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025.7.2) 沖縄
 5. 大久保佑亮, 松浦利絵子, 村山航己, 佐藤 花音, 石川亜佐美, 中元颯馬, 平林容子, 中島芳浩, 福田淳二: シグナルかく乱に着目した in vitro 発生毒性試験とそのリスク評価への展開、第 65 回日本先天異常学会学術集会 (2025.7.27) 伊勢
 6. 村山航己, 佐藤 花音, 松浦利絵子, 石川亜佐美, 中元颯馬, 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指標による精巣毒性物質の評価、第 65 回日本先天異常学会学術集会 (2025.7.25) 伊勢
 7. 大久保佑亮: シグナルかく乱を指標とする発生毒性試験法 DynaLux/c の開発と行政受入に向けた取り組み、日本動物実験代替法学会第 38 回大会 (2025.11.1) 横浜
 8. 村山航己, 佐藤 花音, 松浦利絵子, 石川亜佐美, 中元颯馬, 平林容子, 中島芳浩, 大久保佑亮, 山田隆志, 福田淳二: ヒト iPS 細胞を用いたシグナルかく乱指標による生殖毒性物質の評価、日本動物実験代替法学会 第 38 回大会 (2025.11.1) 横浜
 9. 佐藤 花音, 村山航己, 松浦利絵子, 中元颯馬, 石川亜佐美, 平林容子, 中島芳浩, 大久保佑亮, 山田隆志, 福田淳二: ヒト iPS 細胞を用いたシグナルかく乱に基づく新型コロナウイルス感染症治療薬の発生毒性評価、日本動物実験代替法学会 第 38 回大会 (2025.11.1) 横浜
 10. 中元颯馬, 村山航己, 佐藤花音, 松浦利絵子, 石川亜佐美, 平林容子, 中島芳浩, 福田淳二, 大久保佑亮, 山田隆志: ヒト iPS 細胞を用いた PFAS のシグナルかく乱作用を基にした発生毒性評価: PFAS への適用性と信頼性の検証、日本動物実験代替法学会 第 38 回大会 (2025.11.1) 横浜
 11. 桑形麻樹子: 第 65 回日本先天異常学会学術集会 DNT 委員会企画シンポジウム: 周産期甲状腺機能低下と次世代の神経発達、非臨床試験の役割「先天異常わが国における化学物質の甲状腺影響評価に関する調査報告」2025.07.25 (伊勢市)
 12. 諫田泰成、桑形麻樹子: 日本動物実験代替法学会第 38 回大会シンポジウム 4: 甲状腺ホルモンに関する新たな動物実験代替法の国際動向「甲状腺ホルモンと発達神経毒性」2025.11.03 (横浜)
 13. 平林容子: 抗体医薬品の非臨床試験: NAMs 利用に関する現状と課題 第 4 回日本抗体学会学術大会 (2025.12.1) 大宮
 14. 平林容子: NAMs 導入に向けた国内外の動向 (2025.10.31) 東京 PMDA 主催シンポジウム 国民が必要とする医薬品/医薬部外品への速やかなアクセスに向けて—NAMs の明日について考える—
 15. Yoko Hirabayashi: Perspective on qualification of the microphysiological systems for regulatory use. IUTOX 17th ICTXVII (Beijing) 2025.10.16
 16. 平林容子: 日本における医薬品開発ツールの適格性認定策定に向けた取り組みについて 第 15 回レギュラトリーサイエンス学会学術大会 (2025.9.5) 東京
 17. Yoko Hirabayashi: NAMs in the safety assessment of chemical substances in Japan 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025.7.3) 沖縄
 18. 平林容子: 動物試験代替法利活用の現状と展望 第 72 回日本実験動物学会総会 (2025.5.22) 名古屋
 19. 松下 幸平, 辻 徹一郎, 赤根 弘敏, 石井 雄二, 高須 伸二, 小川 久美子, 伊藤 貴仁, 横尾 英知, 出水 庸介, 平林 容子, 齋藤 嘉朗, 本間 正充, 豊田 武士: プベール酸のラットを用いた 28 日間反復経口投与毒性試験 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025.7.2) 沖縄
 20. 西村 拓也, 平林 容子, 小川 久美子, 角田 聡, 鈴木 睦, 佐藤 玄, 豊田 武士, 高橋 祐次: 毒性試験用語集の改訂と利活用可能なデータベースの構築の取り組み 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025.7.4) 沖縄
 21. 松田直晃, 大久保佑亮, 小原息吹, 小石川 蒼馬 敏, 高野珠実, 西村拓也, 高橋祐次, 北嶋聡, 平林容子, 関澤信一, 桑原正貴, 太田裕貴, 栃内亮太: 長時間連続の自動行動診断を実現するラット用ウェアラブルデバイスシステムの開発、第 52 回日本毒性学会学術年会、(2025.7.2) 沖縄
 22. Okubo Y., Matsuura R., Murayama K., Sato K., Nakamoto S., Ishikawa A., Kuwagata M., Kojima H., Sasaki D., Nakajima Y., Fukuda J., Hirabayashi Y.: Quantifying signaling-perturbation kinetics for in vitro developmental toxicity testing. The 65th Society of Toxicology Annual Meeting (2026.3.23, San Diego, CA, USA).
 23. 平林容子: 非臨床安全性評価の国際動向と抗体医薬品評価における新規評価法 (NAMs)

活用への展望、第 146 回日本薬学会、2026 年
3 月 27 日、大阪

F. 知的財産権の出願・登録状況
特許取得・実用新案登録・その他
なし

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

リスク評価に向けた DynaLux/c の改良

研究分担者 大久保 佑亮 国立医薬品食品衛生研究所

研究分担者 福田 淳二 横浜国立大学

研究要旨

化学物質が胚・胎児発生に及ぼす影響は、ヒトと実験動物の種差が大きいことが知られている。そのため、従来の発生毒性試験では複数の動物種を多数用いた動物実験を通じてヒトへの外挿性を高める手法が取られてきた。しかし、このような試験系は高コストであり、動物福祉の観点からも動物実験の代替法の開発が強く求められている。一方で、受精卵から胎児に至るまでの複雑な発生過程を細胞レベルで正確かつ網羅的に再現することは極めて困難であり、現在のところ実用に耐える in vitro 試験系は確立されていない。これまで我々は、胚・胎児発生が少数のシグナル伝達相互作用によって制御される点に着目し、化学物質のシグナルかく乱作用を基に発生毒性を評価する DynaLux/c を開発してきた。DynaLux/c は動物を用いた従来の発生毒性試験とは概念的に異なる細胞ベースの試験法であり、高い正確性と網羅性を有するだけでなく、96 穴プレートを用いて一週間程度で実験を完了できるため、高スループットかつ低コストという特徴を持つ。しかしながら、現在の段階ではハザード評価が主眼であり、化審法などの行政判断に必要なリスク評価に用いるには、毒性強度を定量評価できる指標を取得する必要がある。

本研究の目的は、DynaLux/c を改良し、ヒトへの外挿性が高くリスク評価にも活用できる新たな NAM (New Approach Method) を確立するとともに、公定化を目指すことである。具体的には、定量的な有害性評価指標を得る仕組みを構築し、将来的に OECD テストガイドライン(TG)として承認されるように研究を推進する。

本分担研究では、DynaLux/c にリアルタイム発光測定装置(KronosHT)を導入し、48 時間の連続した FGF シグナルの下流の血清応答因子のかく乱作用を計測した。溶媒対照に対する化学物質のシグナルかく乱面積を Area Between the Curve (ABC) として化学物質のシグナルかく乱作用を指標として用いた。陽性対照物質および陰性対照物質を用いた検討では、33 種中 32 種が既知分類と一致した。(ハザード評価)。また、リスク評価を可能とするために、各濃度の ABC 値を基に発生毒性を評価可能な解析法の開発に取り組んでいる。

A. 研究目的

化学物質による胚・胎児発生への影響は、ヒトと実験動物の種差が大きいことが知られている。そのため、従来の発生毒性試験では複数の動物種を多数用いた動物実験によってヒトへの外挿性を高めてきた。しかしながら、このような試験系は高コストであるうえに、動物福祉の観点からも動物実験代替法の開発が強く求められている。一方で、受精卵から胎児に至るまでの複雑な発生過程を細胞レベルで正確かつ網羅的に再現することは非常に困難であり、現在のところ実用に耐える *in vitro* 試験系は確立されていない。

そこで、我々は、胚・胎児発生が少数のシグナル伝達相互作用によって制御される点に注目し、化学物質のシグナルかく乱作用を基盤とした発生毒性評価法「DynaLux/c」を開発してきた (iScience 等)。DynaLux/c は、動物を用いた従来の発生毒性試験とは概念的に異なる細胞ベースの試験法であり、高い正確性と網羅性を有するだけでなく、96 穴プレートを用いて一週間程度で実験を完了できるため、高スループットかつ低コストという特徴を持つ。しかしながら、現在の段階ではハザード評価が主眼であり、化審法などの行政判断に必要なリスク評価に用いるには、毒性強度を定量評価できる指標を取得する必要がある。

本研究の目的は、DynaLux/c を改良し、ヒトへの外挿性が高くリスク評価にも活用できる新たな NAM (New Approach Method) を確立するとともに、公定化を目指すことである。具体的には、定量的な有害性評価指標を得る仕組みを構築し、OECD テストガイドライン (TG) として承認されるように研究を推進する。化審法の審査においては、一般毒性 (28 日間反復投与毒性) に加えて生殖発生毒性試験や発がん試験の情報が要求されるが、GLP 準拠の発生毒性試験や発がん試験は高コストかつ長期間を要するため、既存情報が十分に

整っているとは言い難い。そのため、低コスト・短期間で信頼性の高い生殖発生毒性情報を提供可能な試験法の開発が強く望まれている。

本研究では、発生毒性評価の専門家 (桑形麻樹子)、公定化に関する専門家 (平林容子: JaCVAM)、業界団体および国際的な合意形成に関わる専門家 (小島肇: 日化協 LRI 顧問) らが連携し、さらに産業技術総合研究所の佐々木大輔博士 (若手) や横浜国立大学の Seo Jieun 博士 (若手・女性・国際性) などを含む研究体制を構築する。こうした専門知識を融合させることで、DynaLux/c の有害性評価値の導出を可能にし、最終的にはリスク評価が可能な *in vitro* 生殖発生毒性代替法として確立することを目指す。

この新たな試験法が公定化されれば、行政判断に必要な有害性データを効率的に取得できるようになり、動物実験の削減や審査コストの軽減につながるだけでなく、新規化学物質の適切なリスク管理の下での迅速な上市を促進することが期待される。さらに、化学産業や規制当局における国際競争力を強化し、産業界のイノベーションを支えながら社会の持続的発展に寄与する可能性がある。

本分担研究では、DynaLux/c をリスク評価可能な系に改良するために、リアルタイムルシフェーラスアッセイ並びにその解析方法の構築を目的とする。

B. 研究方法

DynaLux/c の概要

DynaLux/c は発生生物学の観点から発生毒性評価を試みた NAM である。受精卵から胎児に至るまでの複雑な形態形成は、細胞の増殖・分化・相互作用などを介し、適切に制御されている。加えて、偶発的な細胞死や遺伝子発現などの内因性、及び化学物質曝露のような外因性のノイズに対する抵抗性もまた適切な発生には重要である。これまでの研究から、形態形成とノイズ抵抗性はシグナル伝達の相互作用により連結され、発生過程を制御していることが明らかになっている(図 1a)。

動物試験では、主に胎児の形態異常を基に化学物質の毒性を評価している(図 1b)。その毒性機序を考えると、化学物質がシグナル伝達相互作用をかく乱し、その結果として生じた形態異常を観察していると考えられる(図 1c)。そこで我々は、このシグナル伝達相互作用のかく乱を計測するこ

とで発生毒性を予測できると考え、リアルタイムルシフェーセンスアッセイを用いたレポーターアッセイを確立した。これまでに、ヒト iPS 細胞を用いて 5 種類 (FGF シグナルは 2 種類、WNT シグナル、BMP シグナル、TGF- β シグナルは各 1 種類) のレポーター系を樹立した。各レポーターとリガンドの組合せを検討し、レポーターの反応性を確認した。その中で、最も発光強度が強くシグナルかく乱に対する感度が高い、FGF シグナルレポーターのうち血清応答因子(Serum Response Factor: SRF)のレポーターアッセイ系を選定した(図 1d)。その特徴は、代表的なホタルルシフェーセンスに比べ約 100 倍明るく iPS 細胞での生細胞ルシフェーセンスアッセイが可能な Nluc を発光レポーターとして用いたことである。また、培養をしながらリアルタイム発光計測が可能なりアルタイム発光測定装置(Kronos HT)を組み合わせるこ

発生毒性評価法の NAM である DynaLux/c

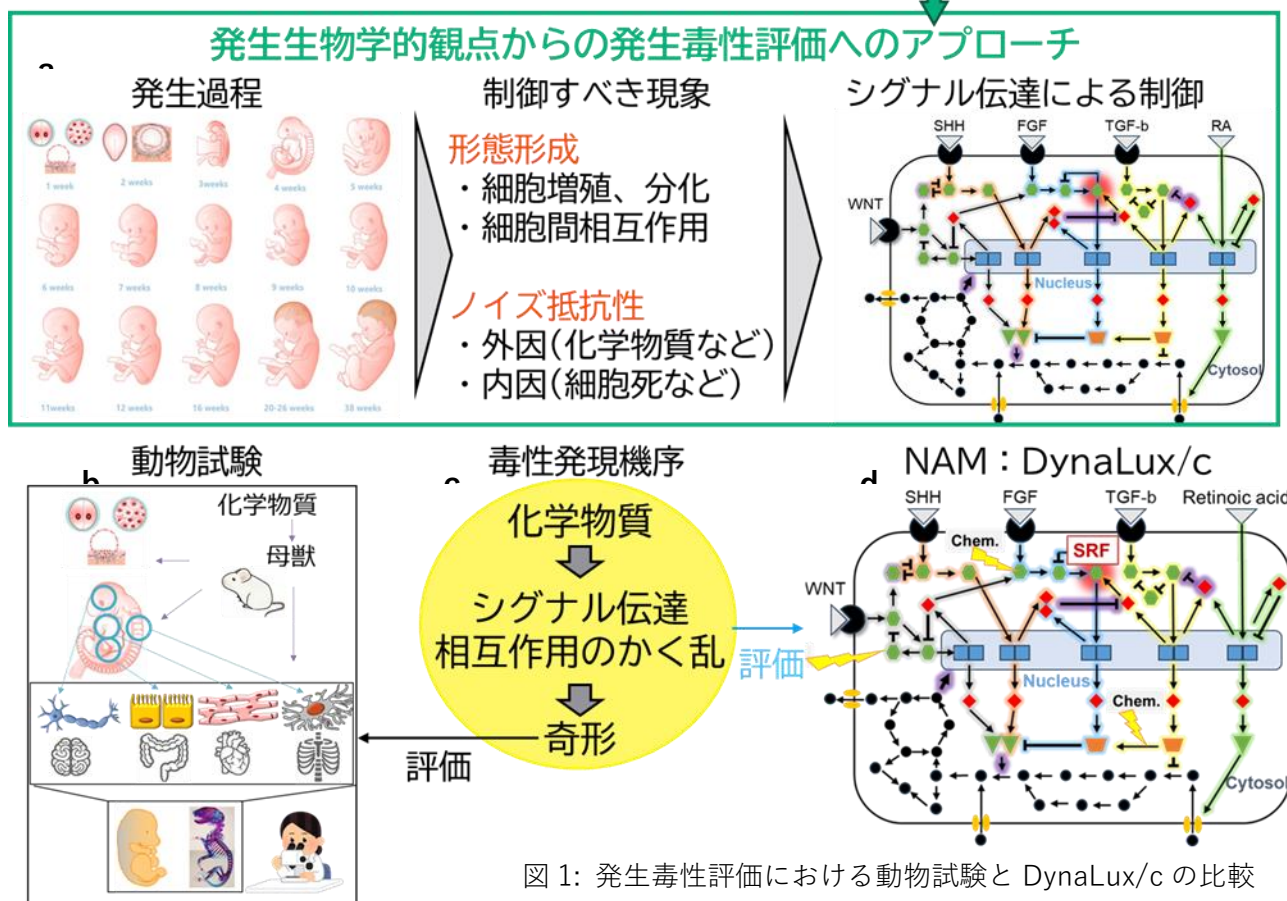


図 1: 発生毒性評価における動物試験と DynaLux/c の比較

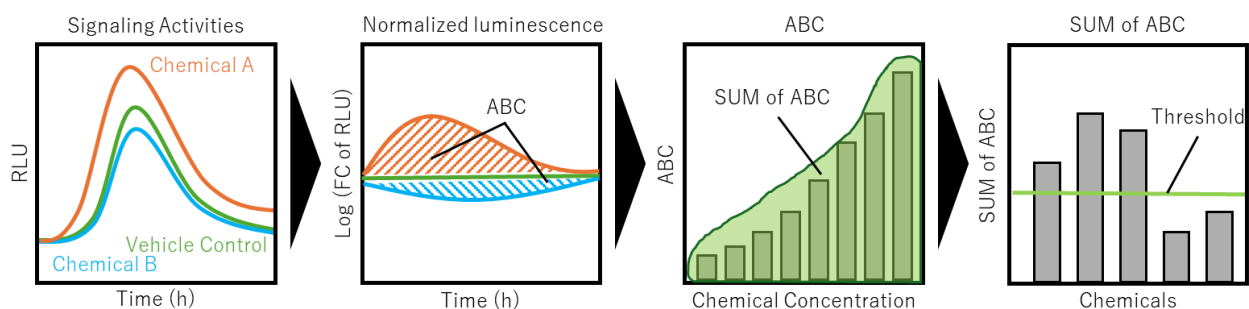


図 2: DynaLux/c によるシグナルかく乱作用の数値化

とで、細胞播種から試験終了まで1週間で終了するハイスループットな試験系を構築した。

実際のシグナルかく乱試験は、レポーターヒト iPS 細胞を 96 穴プレートに播種しコンフルエントになるまで培養する。その後、試験物質を最高溶解度もしくは IC_{65} 以下の濃度を最高濃度として 1/2 ずつ希釈した 8 段階の濃度を培地に適用し、48 時間以上リアルタイムルシフェアスアッセイを行う。化学物質のシグナルかく乱作用を比較するために、溶媒対照群に対する試験物質のシグナルかく乱面積 (Area between the curve: ABC) を各濃度で求め、それらの和をシグナルかく乱作用の値とした (SUM of ABC)。ROC 解析により閾値を設定し、発生毒性陽性と陰性を分類する (図 2)。

B-1. DynaLux/c による発生毒性物質のハザード評価並びに特性解析。標準作業手順書 (Standard Operating Procedure: SOP) の改良

昨年度は陽性対照物質 14 種 (サリドマイド (THA)、バルプロ酸ナトリウム (VPA)、メトトレキサート (MTX)、レナリドミド (LEN)、メトキシ酢酸 (MAA)、サリチル酸ナトリウム (SA)、ヒドロキシウレア (HU)、レチノイン酸 (RA)、ホウ酸 (BA)、フルオロウラシル (5FU)、塩化リチウム (LiCl)、ブロモデオキシウリジン (BrdU)、5,5-ジメチル-2,4-オキサゾリジンジオン (DMO)、ジフェンヒドラミン (DHM))、陰性対照物質 5 種 (ペニシリン (PenG)、サッカリン (SAC)、シメチジン (CM)、D-カンファ

ー (CAM)、ジメチルフタレート (DMP)) を評価した。

今年度は、陽性対照物質 9 種 (メチル水銀 (MeHg)、有機フッ素化合物 (PFAS) であるペルフルオロオクタン酸 (PFOA)、ペルフルオロオクタンスルホン酸 (PFOS)、コロナ治療薬であるモルヌピラビル (MOV)、レムデシビル (RDV)、エンシトレビル (ENS)、バリシチニブ (BARI)、抗がん剤であるドキソルビシン (DOXO)、エトポシド (ETP))、陰性対照物質 5 種 (アクリルアミド (AcA)、サキサグリプチン (SAXA)、ビルダグリプチン (VILD)、ニルマトレビル (NMV)、リトナビル (RTV)) を引き続き試験した (表 1)。

これまでの研究において 33 種類の試験データが蓄積されてきた。これらのデータを基に、リスク評価法の開発を進めた。

また、技術移転を目的としたコンソーシアムにおいて、改良した SOP を配布し、次年度に実施予定の DynaLux/c の技術移転に関する意見を収集した。

(倫理面への配慮)

該当なし。

C. 研究成果および考察

試験の成立には 96 穴プレートの各 Well の細胞密度が重要な要素である。そのため、昨年度に作成した SOP では、培養スケジュールの厳格な管理、96 穴プレートのエッジ効果の抑制、細胞培養時の温度の維持の 3 点を厳格化することで細胞密度の均一化を試み、施設内において再現性の高い

波形データを得られるようになった。今年度は円滑な施設間の技術移転を見据え、さらなる技術的な課題を抽出し、SOP の改良を行った。まず、試験に使用しない 96 穴プレートの外周の Well にもレポーター細胞を播種することで、Well 間のシグナル波形が安定した (図 3)。次に、ヒト iPS 細胞では継代ごとに倍化時間が変動することがあり、播種細胞数をそろえるだけでは、細胞密度の安定には不十分であることが分かった。そこで、施設内の背景データと直前の細胞倍化データから、播種細胞数を補正することで、細胞培養の安定性が向上した (図 4)。

次に DynaLux/c による化学物質のシグナルかく乱作用を測定した。図 2 に示した手法で、試験物質の各濃度のかく乱面積 (Area between the curve: ABC) からシグナルかく乱作用を数値化すると共に、これらの ABC の和 (Sum of ABC) を求めた。ROC 曲線解析により閾値を用いて、Sum of ABC に基づくハザード分類を行ったところ、本データセットでは、陽性対照物質 23 種と陰性対照物質 10 種のうち 32 種が既知分類と一致した。(図 5)。

一方で、陽性対照物質である HU、DMO、ENS と、陰性対照物質である SAXA、VILD は、Sum of ABC 値が近接しており、試験実施環境によっては判定結果が変動する可能性が示唆された。これは、DynaLux/c における試験濃度設定が、培地中での溶解性や細胞毒性といった化学物質固有の特性に依存するためと考えられる。例えば、SAXA および VILD については、ICH S5 (R3) の添付資料に記載された Cmax がそれぞれ 0.024 $\mu\text{g/mL}$ および 0.524 $\mu\text{g/mL}$ であるのに対し、本試験における最高試験濃度は 500 $\mu\text{g/mL}$ および 250 $\mu\text{g/mL}$ であり、臨床曝露量と比較してそれぞれ 20833 倍および 477 倍に相当する。つまり、化学物質によっては溶けにくい、もしくは溶けすぎるといった課題が生じている。したがって、DynaLux/c を用いたハザード評価にあたっては、試験系の感度のみな

らず、実際の曝露レベルを踏まえた解釈が重要である。なお、アクリルアミドは偽陽性と判断され、唯一の誤判定であった。その理由をこれまでに収集した毒性情報を基に考察した。アクリルアミドは精巢毒性があり生殖毒性物質である。妊娠動物に投与すると、母毒性が強く発現し、胚・胎児致死作用が観察されているが、生存胎児に形態異常を含め発達への影響は認められないことから、催奇形性は無しと分類されている。本剤のように母動物の感受性範囲が狭く胚・胎児致死作用のみが認められる化学物質が他にないかという点にも留意をしていく予定である。

本研究の目的は、DynaLux/c を改良し、ヒトへの外挿性が高くリスク評価にも活用できる新たな NAMs を確立することである。そこで、これまで得られたデータを基に DynaLux/c のリスク評価法の開発を行った。33 種の化学物質の ABC 値を比較したところ、陰性対照物質では VILD と SAXA の高用量群以外の物質は ABC 値が押しなべて低いこと、陽性対照物質の多くは用量相関を示すこと、明確な用量相関を示さない物質においても、陰性対照物質の ABC 値に比べ高い値を示すことが示唆された (図 6)。現在、これらの結果を基にしたリスク評価法を開発しており、リスク評価法としての有用性を検証している (詳細は次年度に報告する)。

これらの結果は、DynaLux/c においても、Point of Departure (PoD) の設定が可能かもしれないことを示唆している。班員やコンソーシアムのメンバーと協議しながら、IVIVE を考慮したリスク

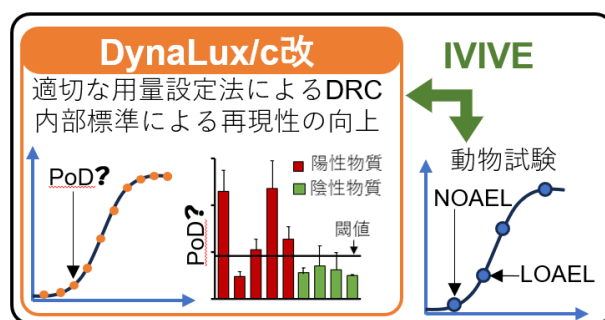


図 7: IVIVE に向けた計画の概要

評価への道筋をつけ、公定化に向けた協議を続ける(図7)。波形データを図8、溶媒対照に対するLog2変化率を図9、各濃度のABC値を図10として示す。

D. 結論

本研究は、DynaLux/cを改良し、ヒトへの外挿性が高くリスク評価にも活用できる新たなNAMsを確立するとともに、公定化を目指すことである。

今年度の研究の成果として、施設間の技術移転を円滑にするためにSOPを改良した。昨年度に引き続きDynaLux/cを実施し、本年度までに陽性対照物質23種、陰性対照物質10種のハザード評価を行い97%の正確度で分類可能であった。唯一の偽陽性となったアクリルアミドは、母動物の感受性範囲が狭く胚・胎児致死作用のみが認められる化学物質であり、評価には慎重を期す必要がある。また、評価物質の各濃度のABC値を基に閾値を設定する解析法を検討し、これらのデータからリスク評価法の開発を行った。今後、その有用性および統計学的妥当性を検証する。

E. 研究発表

1.論文発表

1. K. Murayama, K. Mizota, R. Matsuura, Y. Okubo, Y. Nakajima, A. Suzuki, J. Fukuda: Developmental Toxicity Assay Based on Real-Time Monitoring of Fibroblast Growth Factor Signal Disruption in Human Induced Pluripotent Stem Cells. J. Vis. Exp. (224), e68910, doi:10.3791/68910 (2025).
2. JE. Yun, J. Seo, J. Koh, SA. Im, KY. Hong, Y. Son, DW. Jeong, J. Fukuda, JW. Park, YS. Chun, Cancer Manipulates Adjacent Adipose Tissue to Exploit Fatty Acids via HIF-1 α /CCL2/PPAR α Axis: A Metabolic Circuit to Support Tumor Progression, Advanced Science (IF=14.1), e15186 (2025) doi.org/10.1002/advs.202515186
3. T. Asaba, S. Hamano, A. Nanmo, J. Seo, T. Kageyama, J. Fukuda, Human iPSC-Derived

Cerebral Organoids Reveal Oxytocin-Mediated Protection Against Amyloid- β Pathology, Regenerative Therapy (IF=3.4), 30, 259-267 (2025)

4. T. Kageyama, J. Seo, L. Yan, S. Hamano, J. Fukuda, Serotonin activates dermal papilla cells and promotes hair growth, Scientific Reports (IF=3.8), 15, 24525 (2025) doi: 10.1038/s41598-025-10716-5
5. T. Asaba, T. Osaki, K. Murayama, S. Hamano, T. Kageyama, J. Fukuda, Effects of vascular endothelial cells on the neurite outgrowth of nerve cells, Journal of Bioscience and Bioengineering (IF=2.3), 140, 3, 168-173 (2025) doi.org/10.1016/j.jbiosc.2025.05.010
6. Y. Migita, T. Kageyama, N. Ito, N. Esaka, A. Nanmo, J. Seo, Y. Lei, S. Hamano, and J. Fukuda, Preparation of hair follicle germs using centrifugal forces for hair regenerative medicine, Journal of Bioscience and Bioengineering (IF=2.3), 139, 6, 445-450 (2025) doi.org/10.1016/j.jbiosc.2025.04.002
7. DW. Jeong, JE. Yun, KH. Lee, GH. Moon, KY. Hong, JW. Park, J. Fukuda, YS. Lee, YS. Chun, Comprehensive understanding of context-specific functions of PHF2 in lipid metabolic tissues, Scientific Reports (IF=3.8), 15, 9074 (2025) doi.org/10.1038/s41598-025-93438-y
8. J. Seo, K. Matsumoto, A. Nanmo, S. Tu, DW. Jeong, YS. Chun, L. Yan, T. Kageyama, J. Fukuda, The role of lipids in promoting hair growth through HIF-1 signaling pathway, Scientific Reports (IF=3.8), 15, 4621 (2025) doi.org/10.1038/s41598-025-88697-8
9. S. Tu, T. Kageyama, J. Seo, Y. Zhou, J. Fukuda, Development of in vitro hair pigmentation model using hair follicle organoids, Journal of Bioscience and Bioengineering (IF=2.3), 139, 2, 141-146 (2025) doi.org/10.1016/j.jbiosc.2024.11.003

2.学会発表

1. Okubo Y, Mizota K, Murayama K, MatsuuraR, Mootha A, Kitajima S, Hirabayashi Y,Nakajima Y,Fukuda J : Continuous Monitoring of Signal Disruption in Human iPSCs for Developmental Toxicity

Assay. 20th INTERNATIONAL CONGRESS OF DEVELOPMENTAL BIOLOGY (2025.6.18)

2. Okubo Y, Murayama K, Matsuura R, Mootha A, Hirabayashi Y, Nakajima Y, Fukuda J: Real-time Monitoring of Signal Disruption in Human iPSCs for Toxicity Assay. Joint Meeting of JSCB 77th & JSDB 58th(2025.7.16-17)
3. 村山航己, 佐藤 花音, 松浦利絵子, Archana Mootha, 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指標による精巢毒性物質の評価、第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025.7.2)
4. 佐藤花音, 村山航己, 松浦利絵子, Mootha Archana, 平林容子, 中島芳浩, 大久保佑亮, 福田淳二: ヒト iPS 細胞を用いた新型コロナウイルス感染症治療薬のシグナルかく乱を基にした発生毒性評価、第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025.7.2)
5. 大久保佑亮, 松浦利絵子, 村山航己, 佐藤 花音, 石川亜佐美, 中元颯馬, 平林容子, 中島芳浩, 福田淳二: シグナルかく乱に着目した in vitro 発生毒性試験とそのリスク評価への展開、第 65 回日本先天異常学会学術集会 (2025.7.27)
6. 村山航己, 佐藤 花音, 松浦利絵子, 石川亜佐美, 中元颯馬, 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指標による精巢毒性物質の評価、第 65 回 日本先天異常学会学術集会 (2025.7.25)
7. 大久保佑亮: シグナルかく乱を指標とする発生毒性試験法 DynaLux/c の開発と行政受入に向けた取り組み、日本動物実験代替法学会 第 38 回大会 (2025.11.1)
8. 村山航己, 佐藤 花音, 松浦利絵子, 石川亜佐美, 中元颯馬, 平林容子, 中島芳浩, 大久保佑亮, 山田隆志, 福田淳二: ヒト iPS 細胞を

用いたシグナルかく乱指標による生殖毒性物質の評価、日本動物実験代替法学会 第 38 回大会 (2025.11.1)

9. 佐藤 花音, 村山航己, 松浦利絵子, 中元颯馬, 石川亜佐美, 平林容子, 中島芳浩, 大久保佑亮, 山田隆志, 福田淳二: ヒト iPS 細胞を用いたシグナルかく乱に基づく新型コロナウイルス感染症治療薬の発生毒性評価、日本動物実験代替法学会 第 38 回大会 (2025.11.1)
10. 村山航己、溝田華柊、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 宇都宮
11. 中元颯馬, 村山航己, 佐藤花音, 松浦利絵子, 石川亜佐美, 平林容子, 中島芳浩, 福田淳二, 大久保佑亮, 山田隆志: ヒト iPS 細胞を用いた PFAS のシグナルかく乱作用を基にした発生毒性評価: PFAS への適用性と信頼性の検証、日本動物実験代替法学会 第 38 回大会 (2025.11.1)

F. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

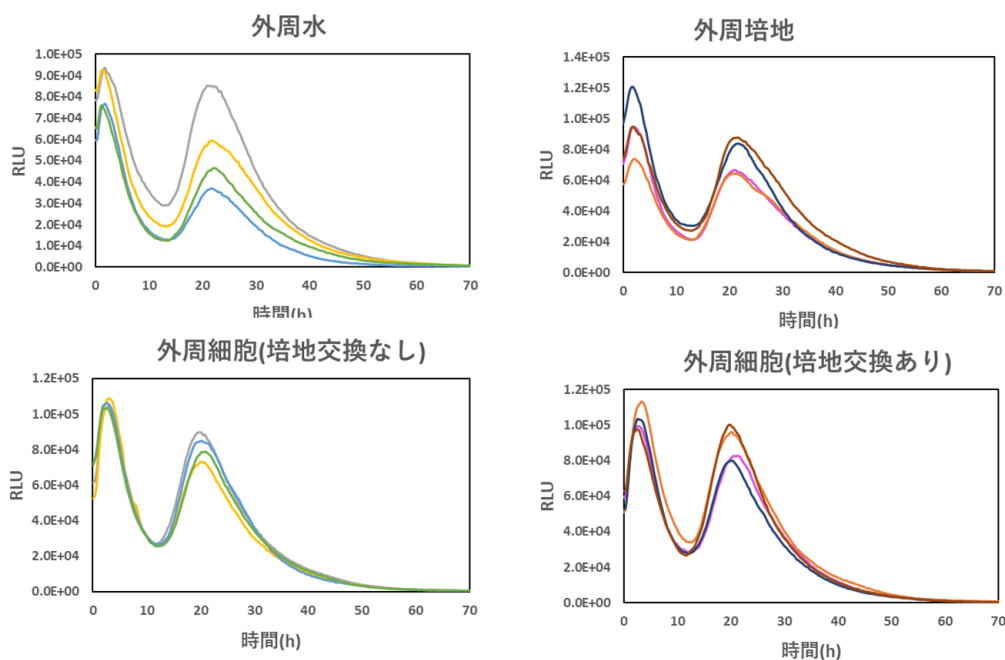


図 3: 96 穴プレートの外周への細胞播種によるシグナル波形の Well 間安定性.

DynaLux/c においては 96 穴プレートの内側 60 Well を使用する。レポーター細胞播種時に、外周の 36 Well に水、培地、レポーター細胞（培地交換の有無）を加えた。その結果、外周にも細胞を播種することで、シグナル波形の Well 間のブレが少なくなった。横軸は時間を、縦軸は発光量を示す。

iPS細胞増殖安定化 (DT平滑化による播種数補正)

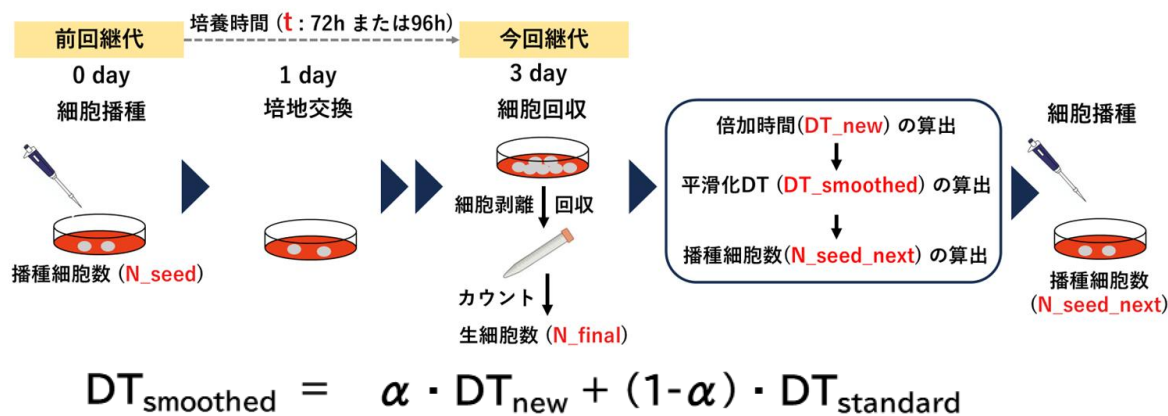


図 4: ヒト iPS 細胞増殖安定化の概要.

まず、直前の倍化時間 (DT_new) 及びこれまでの施設背景値 (DT_standard) から、平滑化 DT (DT_smoothed) を計算する。 α は係数であり、我々の研究室では 0.4 としている。

DTsmoothed を用いて播種細胞数(N_seed_next)を算出することで、安定した iPS 細胞の培養が可能となる。

表 1：令和 7 年度試験物

FF

	ラベル	名前	略語	CAS No.	溶媒	最高濃度 (ug/mL)	判定
1	陽性物質	メチル水銀	M eHg	115-09-3	DM SO	0.58	正
2	陽性物質	ペルフルオロオクタン酸	PFO A	335-67-1	DM SO	200.00	正
3	陽性物質	ペルフルオロオクタンスルホン酸	PFO S	1763-23-1	DM SO	150.00	正
4	陽性物質	モルヌピラビル	M O V	2349386-89-4	DM SO	100.00	正
5	陽性物質	レムデシビル	RD V	1809249-37-3	DM SO	4.03	正
6	陽性物質	エンシトレルビル	EN S	2647530-73-0	DM SO	200.00	正
7	陽性物質	バリシチニブ	BARI	1187594-09-7	DM SO	6.25	正
8	陽性物質	ドキシソルビシン	D O X O	25316-40-9	DM SO	124.80	正
9	陽性物質	エトポシド	ETP	33419-42-0	DM SO	160.00	正
10	陰性物質	アクリルアミド	A cA	79-06-1	DM SO	500.00	誤
11	陰性物質	サキサグリブチン	SAXA	709031-78-7	DM SO	500.00	正
12	陰性物質	ビルダグリブチン	V LD	274901-16-5	DM SO	250.00	正
13	陰性物質	ニルマトレビル	NM V	2628280-40-8	DM SO	100.00	正
14	陰性物質	リトナビル	RTV	155213-67-5	DM SO	3.13	正

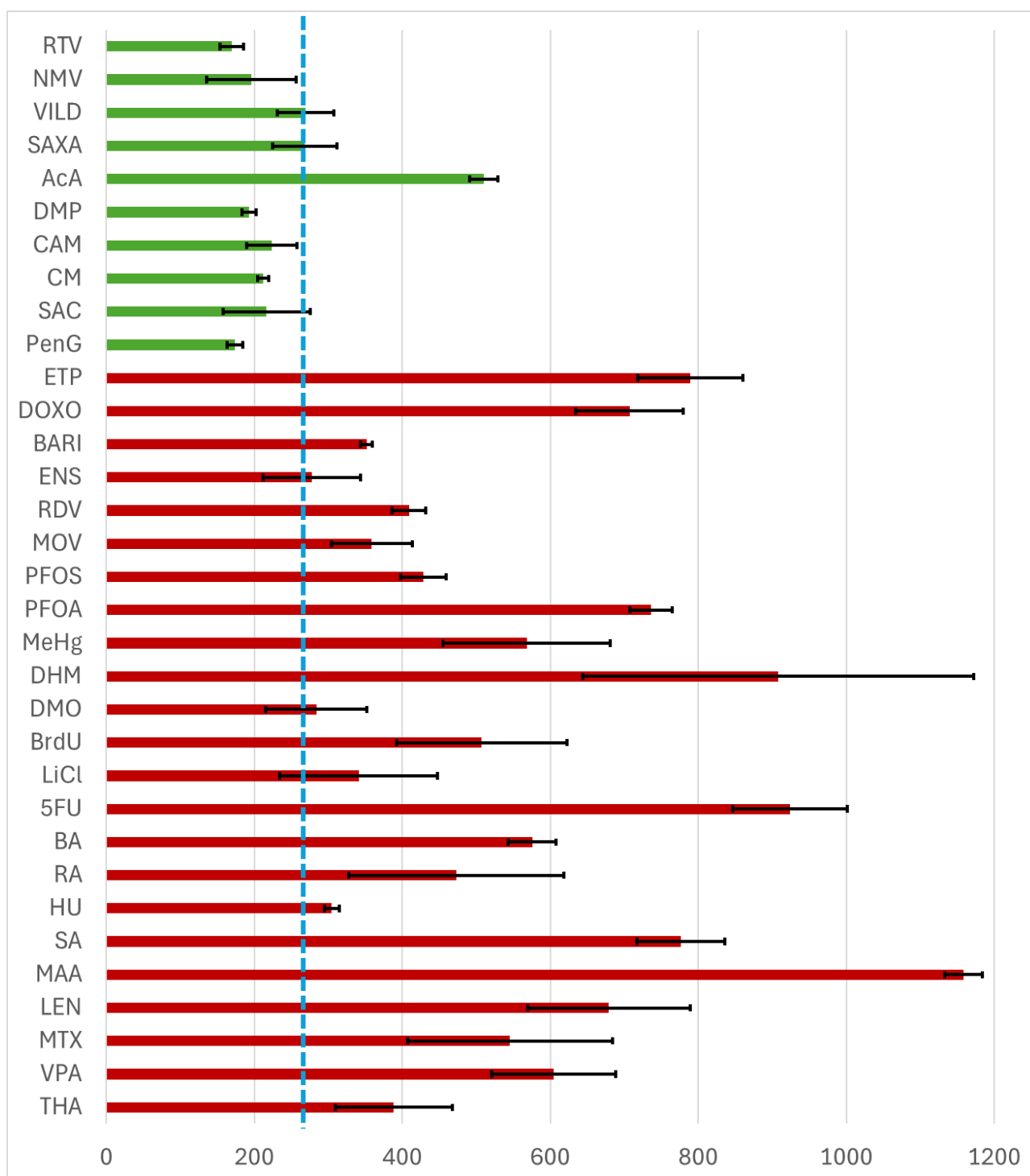


図 5: 評価物質の Sum of ABC.

横軸は評価物質のシグナルかく乱値(Sum of ABC)を示す。水色の波線は、閾値を表している。赤色、緑色は、それぞれ発生毒性陽性対照物質、陰性対照物質を意味する。各棒は 3 回の独立実験の平均値を、エラーバーは独立実験間の標準偏差 (SD) を示す。各独立実験では duplicate の平均値を用いた。

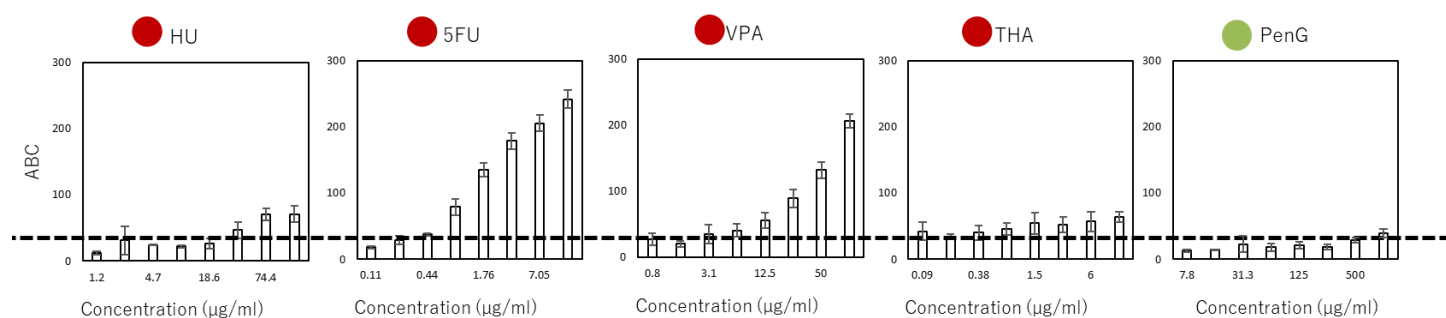


図 6: ABC を用いたリスク評価法の検討.

評価物質のシグナルかく乱値 ABC。横軸は評価物質の各濃度のシグナルかく乱値(ABC)を示す。黒色の波線は、暫定閾値を表している。赤色丸、緑色丸は、それぞれ発生毒性陽性対照物質、陰性対照物質を意味する。各棒は 3 回の独立実験の平均値を、エラーバーは独立実験間の標準偏差 (SD) を示す。各独立実験では duplicate の平均値を用いた。

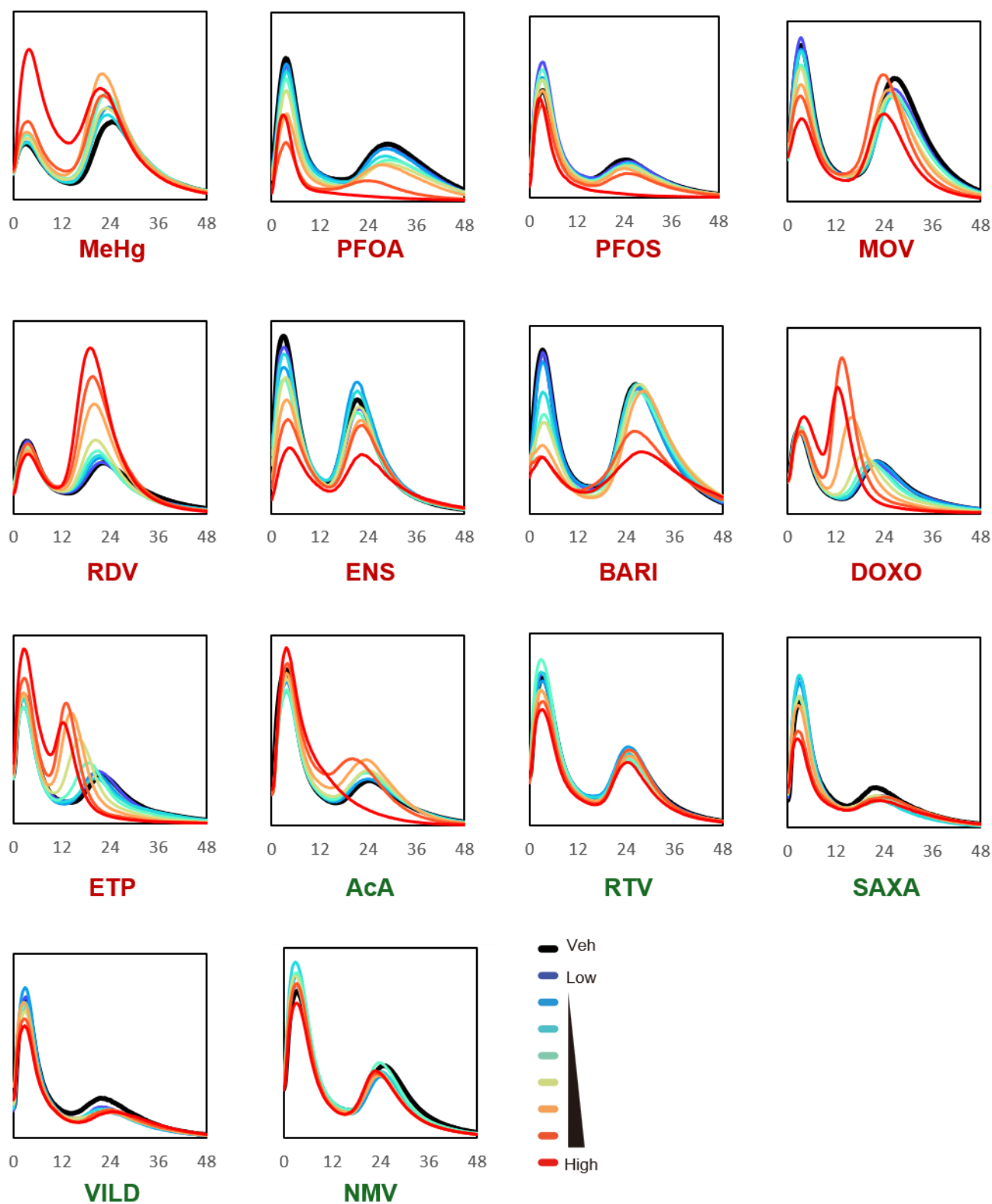


図 8：リアルタイム FGF-SRF シグナルルシフェレースアッセイ。

グラフの下の物質名の文字の色は赤色が陽性対照物質を、緑色が陰性対照物質を示す。グラフの曲線の色は溶媒対照及び試験濃度を表す。試験濃度は表 1 を参照。グラフは各物質の代表例。

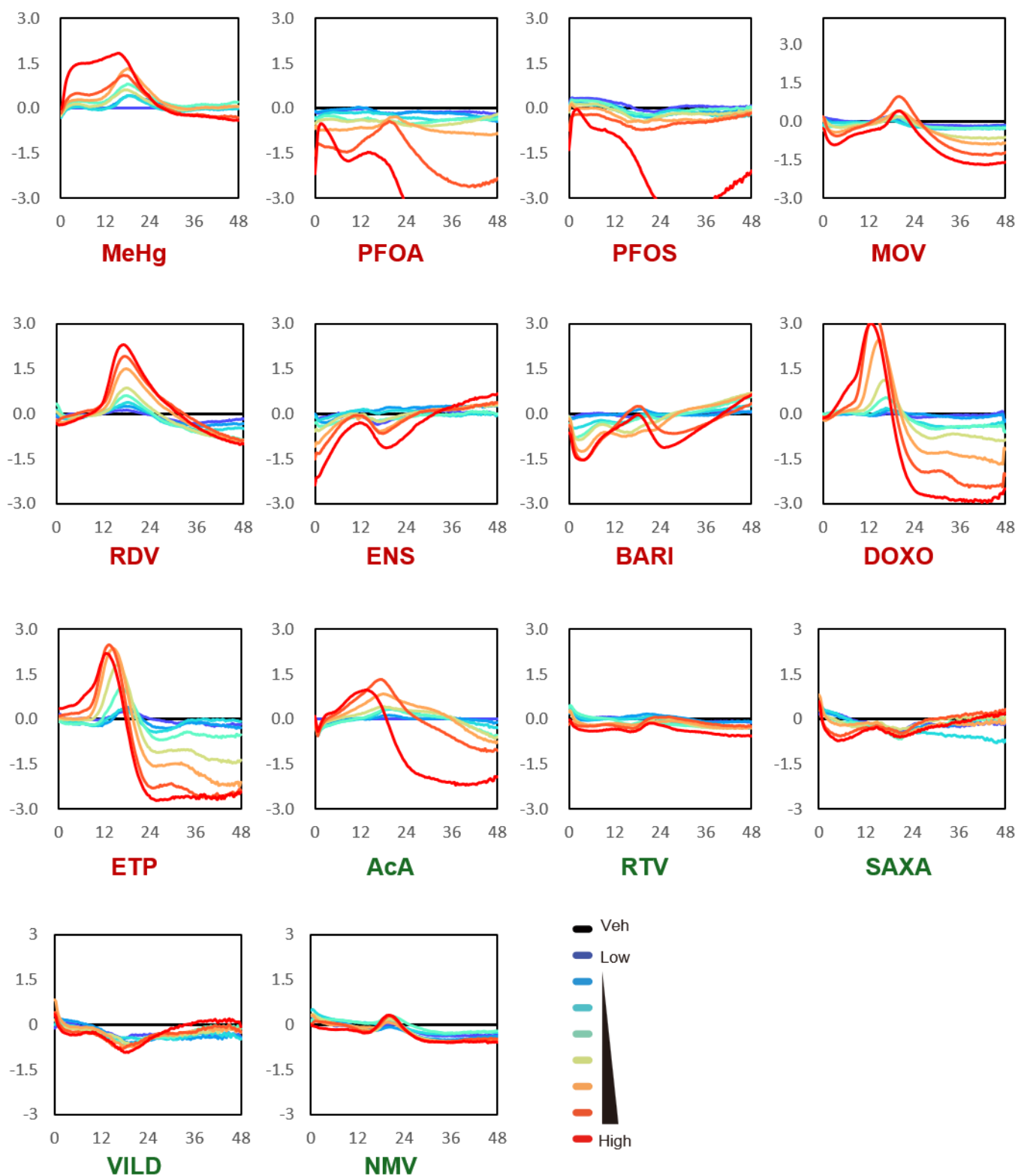


図 9：溶媒対照に対する Log2 変化率.

グラフの下に物質名の文字の色は赤色が陽性対照物質を、緑色が陰性対照物質を示す。グラフの曲線の色は溶媒対照及び試験濃度を表す。試験濃度は表 1 を参照。グラフは各物質の代表例。

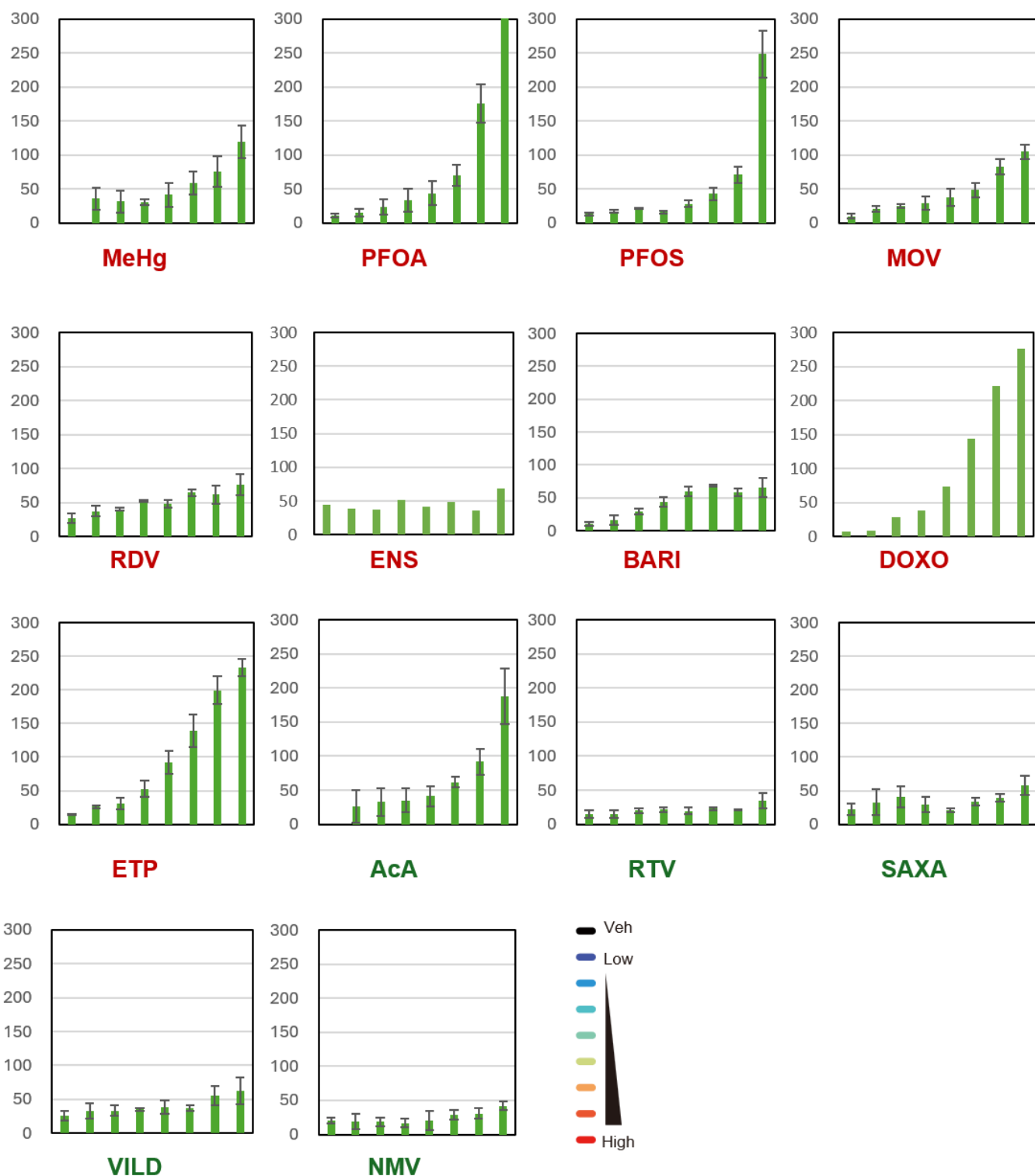


図 10：各濃度の ABC 値.

グラフの下に物質名の文字の色は赤色が陽性対照物質を、緑色が陰性対照物質を示す。グラフの曲線の色は溶媒対照及び試験濃度を表す。試験濃度は表 1 を参照。各棒は 3 回の独立実験の平均値を、エラーバーは独立実験間の標準偏差 (SD) を示す。各独立実験では duplicate の平均値を用いた。

分担研究報告書

In vitro-in vivo extrapolation (IVIVE)に向けた情報収集並びに評価物質の選定

研究分担者 桑形 麻樹子

帝京平成大学・健康医療スポーツ学部・医療スポーツ学科・教授

研究要旨

本研究は、我々が開発した化学物質のシグナルかく乱作用を基盤とした発生毒性評価法「DynaLux/c」を改良し、ヒトへの外挿性が高くリスク評価にも活用できる新たなNAM (New Approach Method)を確立するとともに、公定化を目指すことを目的としている。

分担研究として、in vitro-in vivo extrapolation (IVIVE)に向けた情報収集並びに評価物質の選定を行った。今年度は昨年度の継続として、研究代表者が先行して実施したDynaLux/cを用いて検討した9種の化学物質について毒性情報を収集し、収集方法を確立するとともに入手可能な情報から内容を精査した。将来的にIVIVE検討を行う際に有用な毒性プロファイルリスト作成に着手した。

A. 研究目的

本研究は、我々が開発した化学物質のシグナルかく乱作用を基盤とした発生毒性評価法「DynaLux/c」を改良し、ヒトへの外挿性が高くリスク評価にも活用できる新たなNAM (New Approach Method)を確立するとともに、公定化を目指すとしている。

分担研究として、in vitro-in vivo extrapolation (IVIVE)に向けた情報収集並びに評価物質の選定を行った。

B. 研究方法

研究代表者がDynaLux/cを用いて先行して検討した9化合物について毒性情報を収集した。

将来的にIVIVEに用いることを想定して、臨床試験および非臨床試験情報を調査した。臨床試験については臨床使用用量および薬物動態結果を、非臨床試験では薬物動態にあわせ、各種毒性試験（急性、亜急性、生殖発生毒性試験）の結果を収集した。

調査方法

主に下記の検索エンジンを用いて、毒性情報を調査した。

- (1) 学術論文の検索サイトである Pubmed (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>)
- (2) 独立行政法人医薬品医療機器総合機構 医療用医薬品の添付文書情報 (https://www.info.pmda.go.jp/psearch/html/menu_tenpu_base.html)

また、市販薬の添付文書、インタビューホームに記載されていた引用文献を確認した。

(倫理面への配慮)

本研究は情報収集が主とした研究であるが、科学的及び動物愛護の配慮を十分行い、所属の研究機関が定める動物実験に関する規定、指針を遵守した。

C. 研究結果及び考察

今年度調査した化学物質を下記に示す。

5-フルオロウラシル、ホウ酸、シメチジン、ジメチルフタラート、レナリドミド、塩化リチウム、メトトレキサート、ベンジルペニシリン、サッカリン

入手した情報から、実施された毒性試験内容（動物種、投与期間、用量）、試験結果（認められた毒性）、および無毒性量（得られなかった場合には無影響量）を精査した。その結果を添付資料1に示した。

一部開示されていない情報も含まれた。また、毒性試験報告書の入手は不可能のために、頻度や程度については精査ができなかった。

D. 結論

今年度は、先行してDynaLux/cにて評価した9化合物について毒性情報を収集した。

収集方法、入手可能な情報が明確になった。次年度は評価化合物数を増やす予定であるが、必要となる情報項目を精査し、将来、IVIVE検討に役立つリスト作成を目指す。

E. 健康危険情報

特になし

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kenji Ohya, Shouhei Hirose, Kohei Nishikaku, Takahiro Ohnishi, Kenichi Lee, Sunao Iyoda, Akiko Kubomura, Yukihiro Akeda, Katsumi Mizukami, Tomikatsu Suzuki, Kenji Takinami, Yuhji Taquahashi, Makiko Kuwagata, Satoshi Kitajima, Takashi Inoue, Yukiko Hara-Kudo. Genomic features and pathogenicity of atypical diarrheagenic Escherichia coli from a large foodborne outbreak *International Journal of Food Microbiology* 434 (2025) 111134-
- 2) 久木友花, 関根秀一, 田村亜紀子, 中川翔太, 額田祐子, 齋藤和智, 小野 敦, 桑形麻樹子, 廣田衛彦, 豊田明美, 畑尾正人, 高橋祐次, 足利太可雄, 山田隆志. 医薬部外品申請におけるNext Generation Risk Assessment (NGRA) の活用に向けた事例研究—リードアクロスによる2-Isobutoxyethanolの発生毒性予測— 日本香粧品学会誌 Vol.49(4), 264-274 (2025)
- 3) 西村拓也, 大久保佑亮, 直田みさき, 鈴木唯, 鈴木睦, 渡部一人, 中澤隆弘, 桑形麻樹子, 小野寺博志, 平林容子. バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床安全性評価の課題と展望—本邦の承認事例に基づくICH S6ガイドライン改訂に向けた考察—

2. 学会発表

国際学会

- 1) Y. Okubo, R. Matsuura, K. Murayama, K. Sato, S. Nakamoto, A. Ishikawa, M. Kuwagata, H. Kojima, D. Sasaki, Y. Nakajima, J. Fukuda, and Y. Hirabayashi. Quantifying signaling-perturbation kinetics for in vitro developmental toxicity testing. The 65th Society of Toxicology (2026.3.23, San Diego, CA, USA)
- 2) R. Ono, M. Naruse, M. Kuwagata, Y. Yoshioka, S. Kitajima, Y. Hirabayashi, T. Ochiya, M. Ikawa, and T. Yamada. Identification of Liver-Specific Extracellular Vesicle (EV) RNAs as Biomarkers of Hepatotoxicity in CD9-EGFP Reporter Mice. The 65th Society of Toxicology (2026.3.24, San Diego, CA, USA)

国内学会

- 1) 桑形麻樹子：第 65 回日本先天異常学会学術集会 DNT 委員会企画シンポジウム：周産期甲状腺機能低下と次世代の神経発達、非臨床試験の役割「先天異常わが国における化学物質の甲状腺影響評価に関する調査報告」2025.07.25（伊勢市）
- 2) 諫田泰成、桑形麻樹子：日本動物実験代替法学会第 38 回大会シンポジウム 4：甲状腺ホルモンに関する新たな動物実験代替法の国際動向「甲状腺ホルモンと発達神経毒性」2025.11.03（横浜）

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

研究要旨

化学物質が胚・胎児発生に及ぼす影響は、ヒトと実験動物の種差が大きいことが知られている。そのため、従来の発生毒性試験では複数の動物種を多数用いた動物実験を通じてヒトへの外挿性を高める手法が取られてきた。しかし、このような試験系は高コストであり、動物福祉の観点からも動物実験の代替法の開発が強く求められている。一方で、受精卵から胎児に至るまでの複雑な発生過程を細胞レベルで正確かつ網羅的に再現することは極めて困難であり、現在のところ実用に耐える *in vitro* 試験系は確立されていない。これまで我々は、胚・胎児発生が少数のシグナル伝達相互作用によって制御される点に着目し、化学物質のシグナルかく乱作用を基に発生毒性を評価する DynaLux/c を開発してきた。DynaLux/c は動物を用いた従来の発生毒性試験とは概念的に異なる細胞ベースの試験法であり、高い正確性と網羅性を有するだけでなく、96 穴プレートを用いて一週間程度で実験を完了できるため、高スループットかつ低コストという特徴を持つ。しかしながら、現在の段階ではハザード評価が主眼であり、化審法などの行政判断に必要なリスク評価に用いるには、毒性強度を定量評価できる指標を取得する必要がある。本研究の目的は、DynaLux/c を改良し、ヒトへの外挿性が高くリスク評価にも活用できる新たな NAM (New Approach Method) を確立するとともに、公定化を目指すことである。具体的には、定量的な有害性評価指標を得る仕組みを構築し、将来的に OECD テストガイドラインとして承認されるように研究を推進する。

本分担研究では、DynaLux/c の更なる高精度化のため、従来の FGF シグナルのかく乱モニター用 NLuc に加え、測定ウェル間の補正および細胞毒性モニターとして用いる第二のルシフェラーゼ(内部標準ルシフェラーゼ)を導入する多色ルシフェレースアッセイ系の構築を行った。

A. 研究目的

化学物質による胚・胎児発生への影響は、ヒトと実験動物の種差が大きいことが知られている。そのため、従来の発生毒性試験では複数の動物種を多数用いた動物実験によってヒトへの外挿性を高めてきた。しかしながら、このような試験系は高コストであるうえ、動物福祉の観点からも動物実験代替法の開発が強く求められている。一方で、受精卵から胎児に至るまでの複雑な発生過程を細胞レベルで正確かつ網羅的に再現することは非常に困難であり、現在のところ実用に耐える *in vitro* 試験系は確立されていない。

そこで、我々は、胚・胎児発生が少数のシグナル伝達相互作用によって制御される点に注目し、化学物質のシグナルかく乱作用を基盤とした発生毒性評価法「DynaLux/c」を開発してきた(*iScience* 等)。DynaLux/c は動物を用いた従来の発生毒性試験とは概念的に異なる細胞ベースの試験法であり、高

い正確性と網羅性を有するだけでなく、96 穴プレートを用いて一週間程度で実験を完了できるため、高スループットかつ低コストという特徴を持つ。しかしながら、現在の段階ではハザード評価が主眼であり、化審法などの行政判断に必要なリスク評価に用いるには、毒性強度を定量評価できる指標を取得する必要がある。

本研究の目的は、DynaLux/c を改良し、ヒトへの外挿性が高くリスク評価にも活用できる新たな NAM (New Approach Method) を確立するとともに、公定化を目指すことである。具体的には、定量的な有害性評価指標を得る仕組みを構築し、OECD テストガイドラインとして承認されるように研究を推進する。化審法の審査においては、一般毒性(28 日間反復投与毒性)に加えて生殖発生毒性試験や発がん試験の情報が要求されるが、GLP 準拠の発生毒性試験や発がん試験は高コストかつ長期間を要するため、既存情報が十分に整っているとは

言い難い。そのため、低コスト・短期間で信頼性の高い生殖発生毒性情報を提供可能な試験法の開発が強く望まれている。

本研究では、発生毒性評価の専門家（桑形麻樹子）、公定化に関する専門家（平林容子：JaCVAM）、業界団体および国際的な合意形成に関わる専門家（小島肇：日化協 LRI 顧問）らが連携し、さらに産業技術総合研究所の佐々木大輔博士（若手）や横浜国立大学の Seo Jieun 博士（若手・女性・多国籍）などを含む研究体制を構築する。こうした専門知識を融合させることで、DynaLux/c の有害性評価値の導出を可能にし、最終的にはリスク評価が可能な *in vitro* 生殖発生毒性代替法として確立することを目指す。

この新たな試験法が公定化されれば、行政判断に必要な有害性データを効率的に取得できるようになり、動物実験の削減や審査コストの軽減につながるだけでなく、新規化学物質の適切なリスク管理の下での迅速な上市を促進することが期待される。さらに、化学産業や規制当局における国際競争力を強化し、産業界のイノベーションを支えながら社会の持続的発展に寄与する可能性がある。

本分担研究では、試験実施者や実施機関間での再現性の向上および DynaLux/c 法の更なる高精度化を目的とし、FGF シグナル（青色）に加えて、内部標準（赤色）を組み込んだ多色ルシフェラーゼアッセイの構築を目的とする。

B. 研究方法

従来のシグナルかく乱モニター用ルシフェラーゼ（NLuc）に加え、測定ウェル間の補正および細胞毒性モニターとして機能する第二のルシフェラーゼ（内部標準ルシフェラーゼ）を導入した多色ルシフェラーゼアッセイ系の構築を試みた。内部標準ルシフェラーゼには、NLuc とは異なる発光基質で発光する甲虫由来の赤色発光ルシフェラーゼ（SLR3）を用い、これら2種のルシフェラーゼを導入した iPS 細胞を樹立した。さらに昨年度に検討した光学フィルターを用いた多色リアルタイム発光測定を試みた。またこれら

の取り組みに加えて、シグナルかく乱モニターに用いるプロモーターについても検討を行った。

（倫理面への配慮）

該当なし。

C. 研究成果および考察

C-1:2 色発光 iPS 細胞のリアルタイム発光測定

これまでの DynaLux/c では、シグナルかく乱モニター用のルシフェラーゼとして、発光基質 Endurazine を用い青色に発光する NLuc を採用している。今回、第二のルシフェラーゼ（内部標準ルシフェラーゼ）として、NLuc と最大発光波長が最も離れ、異なる発光基質（D-ルシフェリン）で発光する赤色発光ルシフェラーゼ（SLR3）を選定した。昨年度、血清応答配列（serum response element、SRE）制御下で NLuc を、恒常的プロモーター（elongation factor1 α ）制御下で赤色ルシフェラーゼを同時に発現するヒト iPS 細胞を樹立した。今年度は、この細胞を用い、両ルシフェラーゼの発光を経時的に同時測定する多色リアルタイム発光測定を実施した。

まず、NLuc と赤色ルシフェラーゼの発光強度を指標に、D-ルシフェリンの至適濃度を決定した。次に、両者の発光を同時測定できるかを検討するため、ショートパスフィルター（SPF500 フィルター）とロングパスフィルター（R62 フィルター）を併用し、発光の分離を試みた（図1）。その結果、定量的に両ルシフェラーゼの発光を分離できることが明らかとなった。さらに、FGF 添加による FGF シグナル活性化時の発光を測定したところ、NLuc の発光強度は顕著に増加する一方、赤色ルシフェラーゼの発光強度は一定に保たれた。この結果から、両ルシフェラーゼの発光を定量的に同時測定できることを確認した（図2）。

C-2:ルシフェラーゼの発現に用いるプロモーターの検討

iPS 細胞において、本研究で実施しているような転写因子応答配列の応答をモニターするレポーターアッセイの報告はほとんどなく、そのためこの目的に

適したプロモーターも知られていない。現状では、当該研究ではプロメガ社製のミニプロモーターを使用しているが、さらに応答性に優れ、高い発光強度が得られるプロモーターの探索を行った。具体的には、3種類の最小プロモーター(SV40、CMV、AdMLPプロモーター由来)をSREとNLucの間に挿入したベクターを作製した。続いて、これらを iPS 細胞のAAVS1領域にCRISPR-CAS9システムを用いてノックインした安定細胞株を樹立した。FGF 添加により、これまで使用している細胞と応答性および発光強度をリアルタイム発光測定で比較した結果、検討した3種類のプロモーターはいずれも現在使用しているミニプロモーターを上回ることはなく、現状ではミニプロモーターが最も適していることが明らかとなった(図3)。しかし、ミニプロモーターの基底プロモーター活性は決して高くなく、発光測定できるシグナル伝達が限定されるため、今後も継続してミニプロモーターよりも優れたプロモーターの探索が必要と考えられる。

C-3: シングルセル発光イメージングの測定

当該アッセイ系において発光測定で観察されるFGF添加による発光強度の一過的な増加(すなわちFGFシグナルの活性化)については、各細胞が同期して活性化しているのか、あるいは非同期的に個別に活性化しているのかは、光電子増倍管を検出器とするKronosHTでは明らかにできない。活性化の同期性の有無は、今後の毒性発現機序を考察する上で極めて重要な知見になる。そこで高感度 CCD カメラを検出器とする発光イメージング装置を用いて、各細胞における発光強度の変化をリアルタイムに測定した。細胞には DynaLux/c で使用している SRE-NLuc を発現する iPS 細胞を用いた。各細胞の発光強度を定量化した結果、一部の細胞では同期しない挙動が見られたものの、大部分の細胞は測定開始約4時間後にピークを有する発光キネティクスを示すことが明らかとなった(図4)。この結果から、DynaLux/cで観察されるFGFシグナルは、主として各細胞が同期的に活性化される現象であることが明らかとなった。

D. 結論

試験法の精度向上を目的として、多色ルシフェラーゼアッセイ系の構築を行い、異なる発光基質に対応する2種類のルシフェラーゼを同時にリアルタイムで測定可能な手法を確立した。本手法の導入により、測定精度が向上するとともに、細胞毒性や測定誤差を補正するための新たな内部基準の導入が可能となった。

E. 研究発表

1. 論文発表

1. Miyata, R., Suzuki, M., Okazaki, Y., Iwai, K.I., Nishiwaki, N. and Nakajima Y. “Takeda G protein-coupled receptor 5 and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activation by pinocembrin and pinostrobin isolated from *Lindera sericea*.” *Int. J. Mol. Sci.* (2026) 27, 2045.
2. Seki, K., Kariya, K., Miyata, R., Sasaki, D., Kobayashi, Y., Ueno, K., Yanagita, R., Tahara, Y., Nakajima, Y. and Ishihara, A. “Identification of new cyclocircadins from *Cyclocybe erebia* and their effects on the circadian rhythm of human osteosarcoma cells.” *J. Nat. Prod.* (2026) 89, 421-432.
3. Sasaki, D., Kusamori, K., Itakura, S., Abe, H., Nakajima, Y. and Nishikawa, M. “Future prospects for edible plant-derived nanoparticles as new functional food ingredients.” *Food Sci. Technol. Res.* (2026) 3, 219-233
4. Watthaisong, P., Kantiwiriyanitch, C., Jitkaroon, W. Phintha, A., Klayparn, I., Lawan, N., Kamutira, P., Sasaki, D., Visitsatthawong, S., Maenpuen, S., Tinikul, R., Sucharitakul, J., Nishihara, R., Niwa, K., Nakajima, Y., Ohmiya, Y. and Chaiken, P. “Red-shifted d-luciferin analogues and their bioluminescence characteristics.” *RSC Chem. Biol.* (2026) 7, 67-80.
5. Chen, X., Rahman, A., Kitada, K., Wang, Y., Nakajima, Y., Liu, C., Taoka, R. and Nishiyama, A. “High salt-induced osmotic stress differentially

modulates hepatocellular and renal carcinoma cell proliferation.” Front. Oncol. (2025) 15, 1693591.

6. Murayama, K., Mizota, K., Matsuura, R., Okubo, Y., Nakajima, Y., Suzuki, A. and Fukuda, J. “Developmental toxicity assay based on real-time monitoring of fibroblast growth factor signal disruption in human induced pluripotent stem cells.” J Vis. Exp. (2025) 224.
7. Miyata, R., Tabei Y., Abe, H., Utsumi, K., Fukuzaki, S., Azuma, S., Takaishi, Y., Kato, T. and Nakajima, Y. “Analysis of active components and NRF2 activation in olive leaf pressurized water extract.” Luminescence (2025) 40, e70312.

2.学会発表

1. Okubo Y., Mizota K., Murayama K., Matsuura R., Mootha A., Kitajima S., Hirabayashi Y., Nakajima Y., Fukuda J.: Continuous Monitoring of Signal Disruption in Human iPSCs for Developmental Toxicity Assay. 20th INTERNATIONAL CONGRESS OF DEVELOPMENTAL BIOLOGY (2025.6.18)San Juan
2. Okubo Y., Murayama K., Matsuura R., Mootha A., Hirabayashi Y., Nakajima Y., Fukuda J.: Real-time Monitoring of Signal Disruption in Human iPSCs for Toxicity Assay. Joint Meeting of JSCB 77th & JSDB 58th(2025.7.16-17)名古屋
3. 村山航己, 佐藤 花音, 松浦利絵子, Archana Mootha, 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指標による精巢毒性物質の評価、第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025.7.2)沖縄
4. 佐藤花音, 村山航己, 松浦利絵子, Mootha Archana, 平林容子, 中島芳浩, 大久保佑亮, 福田淳二:ヒトiPS細胞を用いた新型コロナウイルス感染症治療薬のシグナルかく乱を基にした発生毒性評価、第52回日本毒性学会学術年会 (2025.7.2)沖縄
5. 大久保佑亮, 松浦利絵子, 村山航己, 佐藤 花音, 石川亜佐美, 中元颯馬, 平林容子, 中島芳浩, 福田淳二:シグナルかく乱に着目した in vitro 発生毒性試験とそのリスク評価への展開、第 65 回日本先天異常学会学術集会 (2025.7.27)伊勢
6. 村山航己, 佐藤 花音, 松浦利絵子, 石川亜佐美, 中元颯馬, 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

ルかく乱指標による精巢毒性物質の評価、第65回 日本先天異常学会学術集会 (2025.7.25) 伊勢

7. 村山航己, 佐藤 花音, 松浦利絵子, 石川亜佐美, 中元颯馬, 平林容子, 中島芳浩, 大久保佑亮, 山田隆志, 福田淳二:ヒト iPS 細胞を用いたシグナルかく乱指標による生殖毒性物質の評価、日本動物実験代替法学会 第 38 回大会 (2025.11.1) 横浜
8. 佐藤 花音, 村山航己, 松浦利絵子, 中元颯馬, 石川亜佐美, 平林容子, 中島芳浩, 大久保佑亮, 山田隆志, 福田淳二:ヒト iPS 細胞を用いたシグナルかく乱に基づく新型コロナウイルス感染症治療薬の発生毒性評価、日本動物実験代替法学会 第 38 回大会 (2025.11.1) 横浜
9. 中元颯馬, 村山航己, 佐藤花音, 松浦利絵子, 石川亜佐美, 平林容子, 中島芳浩, 福田淳二, 大久保佑亮, 山田隆志: ヒトiPS細胞を用いたPFASのシグナルかく乱作用を基にした発生毒性評価:PFASへの適用性と信頼性の検証、日本動物実験代替法学会 第 38 回大会 (2025.11.1) 横浜

F. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む)

該当なし

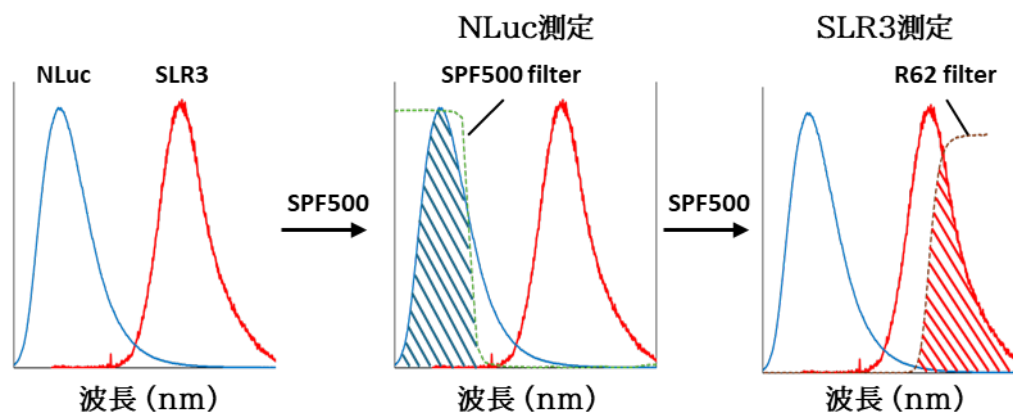


図 1:2種類の光学フィルターを用いた NLuc と SLR3 の測定。最初にショートパスフィルターである SPF500 を用いて NLuc の発光(青色斜線部分)を測定、続いてロングパスフィルターである R62 を用いて SLR3 の発光(赤色斜線部分)を測定する。DynaLux/c で用いている発光測定装置(KronosHT)には、これらのフィルターが組み込まれており、自動的に連続した測定が可能である。

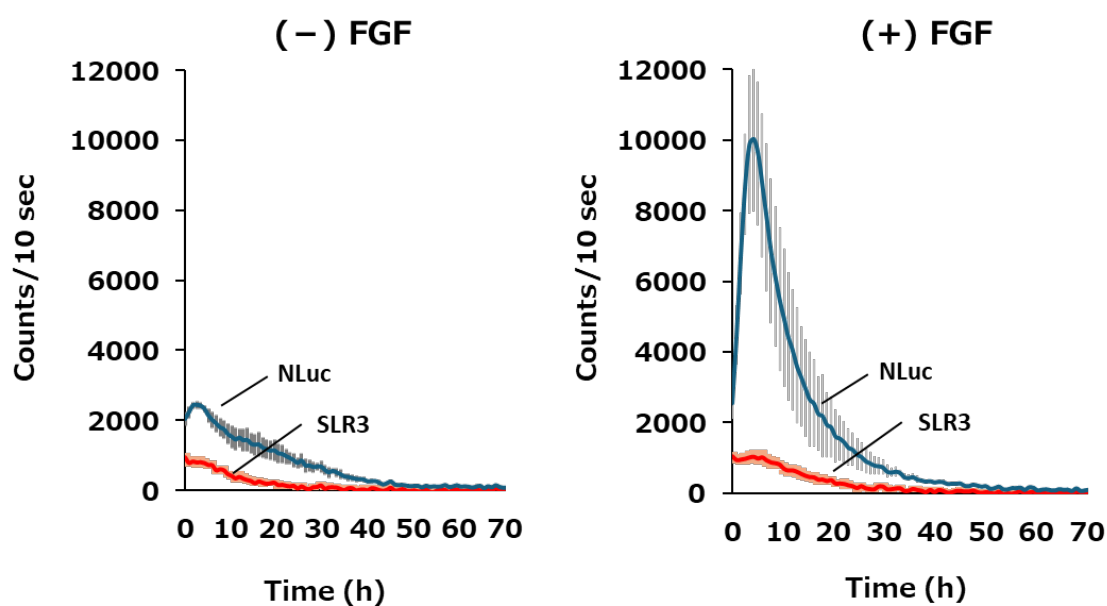


図 2:2色発光 iPS 細胞を用いた多色リアルタイム発光測定の結果。図1に示した方法に従い、NLuc(青線)および SLR3(赤線)の発光を経時的に測定した。左図は FGF 無添加、右図は FGF を添加した細胞の発光測定結果を示す。

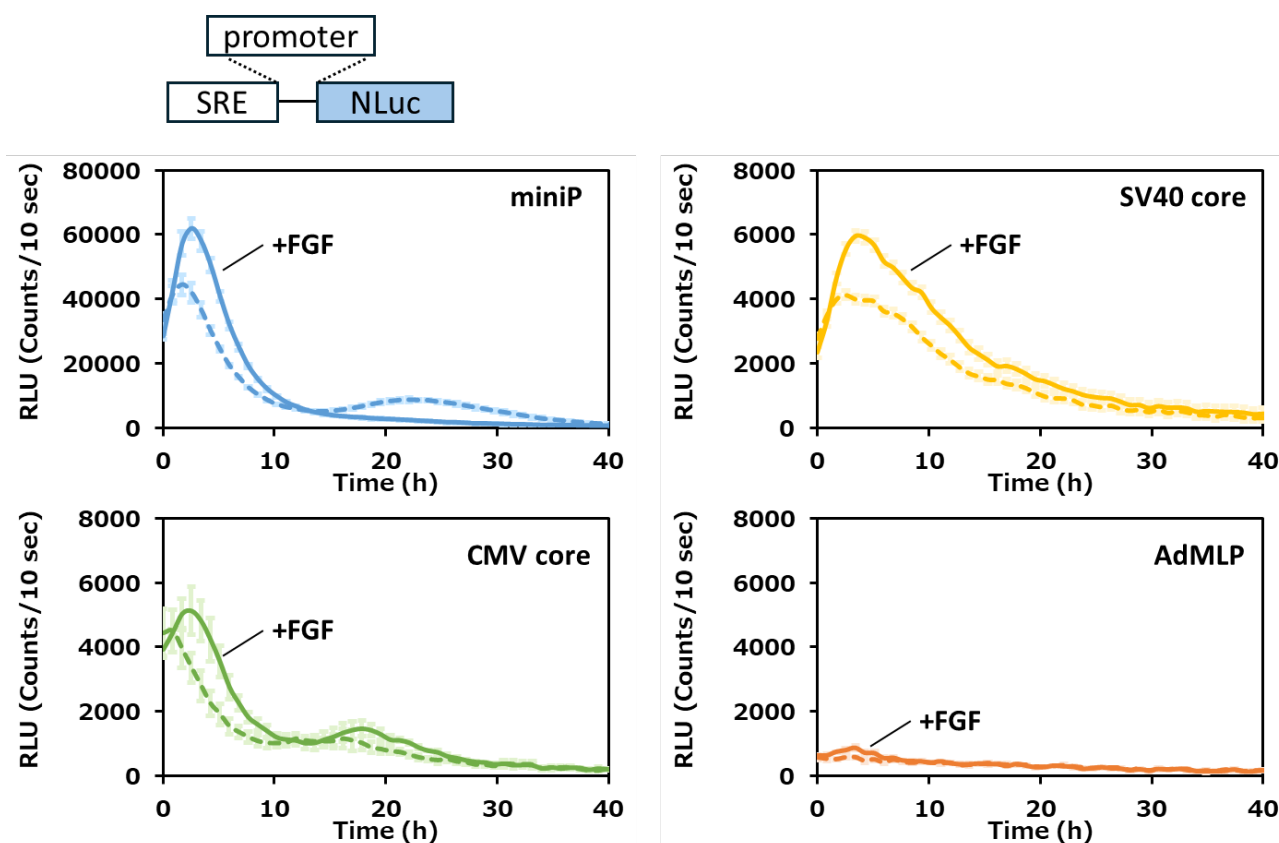


図 3: ルシフェラーゼ発現用プロモーターの検討。3 種類の最小プロモーター (SV40、CMV、AdMLP プロモーター由来) を SRE と NLuc の間に挿入したベクターを作製し、これらを AAVS1 領域に挿入した iPS 細胞を樹立した。各細胞のリアルタイム発光測定結果を示す。

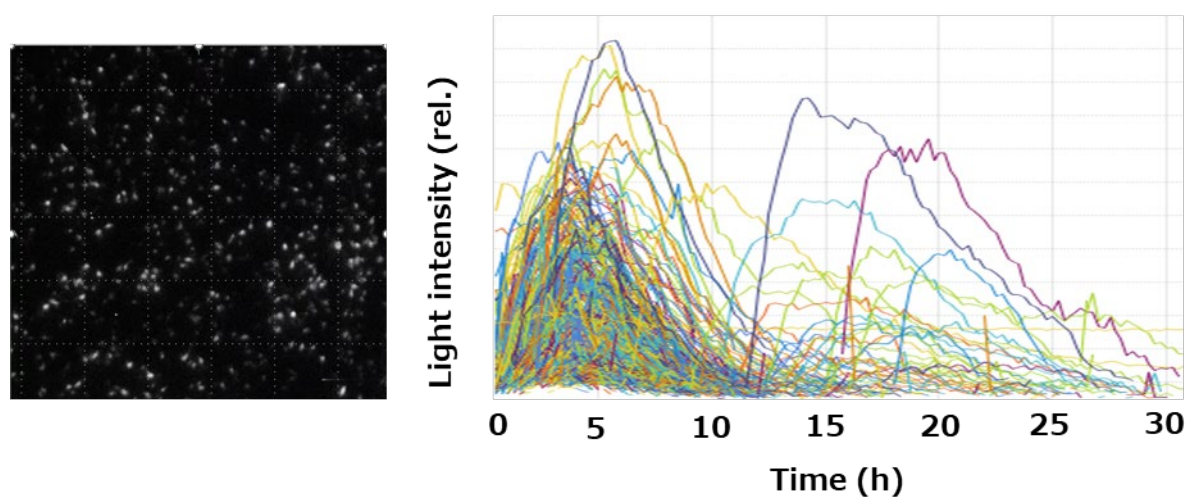


図 4: SRE-NLuc iPS 細胞のシングルセル発光イメージング。SRE-NLuc iPS 細胞に FGF を処理し、30 時間発光イメージングを行った。左図は測定開始約 4 時間後のイメージング画像、右図は各細胞の発光強度の定量結果を示す。

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
発生毒性リスク評価に資するシグナル伝達かく乱作用を基にした NAMs の開発
令和7年度 研究成果報告書

コンソーシアムの設立、国内外の合意形成

研究分担者 小島 肇
国立医薬品食品衛生研究所 客員研究員

研究要旨

ヒト iPS 細胞を用いた発生毒性評価法(DynaLux/c)は、高いヒトへの外挿性と網羅性を有し、高スループット故に低コストで化学物質のハザード評価が可能な *in vitro* 生殖発生毒性代替法に値する試験法である。本研究では、DynaLux/c を有害性評価値の導出に寄与できる定量的な指標を得ることが可能な試験系として確立し、最終的にリスク評価可能な OECD の TG として公定化することを目標としている。この試験法が開発されることにより、申請者の負担を少なくした上で、化審法の審査に有益な情報が提供可能となる。その結果、適切なリスク管理の下、有用な新規化学物質の迅速な上市に資する。本研究班の中で、DynaLux/c の公定化に向けて、業界団体等の意見反映及び国際的な合意形成を目指した。

昨年度、業界団体の意見を反映させるため、コンソーシアム会議を設置した。本年度の会議において、技術移転性のための共同研究開始を念頭に講習会の条件や日程、予算などについて議論し、来年度の講習会及び共同研究を円滑に開催できるよう準備した。

研究協力者

正田卓司 国立医薬品食品衛生研究所
有機化学部

A. 研究目的

ヒト iPS 細胞を用いた発生毒性評価法(DynaLux/c)は、高いヒトへの外挿性と網羅性を有し、高スループット故に低コストで化学物質のハザード評価が可能な *in vitro* 生殖発生毒性代替法に値する試験法である。本研究では、DynaLux/c を有害性評価値の導出に寄与できる定量的な指標を得ることが可能な試験系として確立し、最終的にリスク評価可能な経済協力開発機構（OECD）の試験法ガイドライン（TG）として公定化することを目標としている。この試験法が開発されることにより、申請者の負担を少なくした上で、化審法の審査に有益な情報が提供可能となる。その結

果、適切なリスク管理の下、有用な新規化学物質の迅速な上市に資する。

本研究班の中で、DynaLux/c の公定化に向けて、業界団体等の意見反映及び国際的な合意形成を目指した。

B. 研究方法

B-1 コンソーシアムの設置

経済協力開発機構（OECD）における国際標準化及び医薬品規制調和国際会議（ICH）における DynaLux/c を用いたリスク評価法の認知を目的に、本研究班の中に業界団体等の意見反映及びプロトコルの技術移転性を確認するため、昨年度コンソーシアムを設立した。

本年度は、第3回コンソーシアム会議を令和7年12月15日（月）キングスカイフロント川崎生命科学・環境研究センター 殿町サロンで開催し

た。班員に加え、厚生労働省、独立行政法人医薬品医療機器総合機構(PMDA)、業界団体の専門家、試験法の開発協力者及び技術移転希望者(オブザーバー)などに参加を依頼した。

倫理面への配慮

実験を伴わないことから、倫理的問題は無いと考える。

C. 研究結果

C-1. コンソーシアムでの議論

本年度第3回コンソーシアム会議には、班員6名、厚生労働省から2名、PMDAから1名、大学関係者2名、日本製薬工業協会から1名、一般社団法人日本安全性試験受託研究機関協議会から5名、一般社団法人日本化学工業協会から2名、日本化粧品工業会から1名及びクロップライフジャパン(旧JCPA 農薬工業会)から2名、オブザーバー5名の合計27名が対面またはwebで参加した。会議では、班員によるDynaLux/cの有用性、権利、ライセンス及びSOPの改定に関する説明の後、技術講習会と技術移転に向けた条件や日程、予算について種々の意見交換がなされた。

結果として、来年度の技術講習会と技術移転に関する予定を大まかではあるが決定できた。

D. 考察

DynaLux/cの技術移転性のための技術講習会や共同研究を円滑に進めることもコンソーシアムの大きな目的である。来年度の講習会の条件や日程、共同研究の予算など参加施設に合意頂く点は多く、一つひとつ問題点を解決した。来年度中に共同研究を開始できるよう覚書などを準備していく予定である。

E. 結論

昨年度、業界団体との意見を反映するため、コンソーシアムを設置した。今年度で開催されたコンソーシアム会議にて、DynaLux/cの技術移転性のた

めの共同研究開始を念頭に、講習会の条件や日程、予算などについて議論し、来年度の講習会及び共同研究を円滑に開催できるよう準備した。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. 小島肇夫. NAMsの開発, *Cosmetic Science*, 2025;6:28-35.
2. 小島肇. コラム 代替法の規制利用の現状と限界、民事法研究会、動物共生権、東京、70-173、2025

2. 学会発表

1. 小島肇, *In vitro* 動物実験代替法の開発状況と今後の期待、安全性評価研究会 第30回実践学術セミナー(2025.4.19, 東京)
2. 小島肇. 新薬開発における動物実験代替法の利用状況および今後の発展性について、第52回日本毒性学会学術年会(2025.7.3, 沖縄)
3. 小島肇. 安全性評価におけるNAMの現状とレギュレーション利用への期待、第28回日本水環境学会シンポジウム(2025.9.17, 富山)
4. Hajime Kojima, NAMs in Regulatory toxicology, Beihang University - Japan Universities Seminar on Biomedical Engineering, Biomaker and Environmental Health Collaboration(2025.10.17, Beijing, China)
5. 小島肇. New Approach Methods (NAM)を用いた食品のリスク評価の動向, ILSI Japan 食品リスク研究部会主催勉強会(2025.10.24, 東京)
6. Hajime Kojima and Yasuyuki Sakai, External policy of JSAAE for broadening the 3Rs concept, 日本動物実験代替法学会 第38回大会(2025.11.3, 横浜)

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

OECD テストガイドライン対応

研究分担者 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

化学物質による発生毒性評価において、動物実験の代替法開発が国際的に求められている中で、本研究では、シグナルかく乱作用に着目した試験法「DynaLux/c」の OECD などにおける国際ガイドラインへの収載に向けた改良を進めている。本分担課題では、本試験法の公定化に資するため、NAMs (New Approach Methods) の行政的受け入れに関する国内外の状況の把握を目的として、OECD や米・EU の国際会議、国内関連学会に参加し、試験法の標準化・ガイドライン化に関する議論や、行政的受け入れ状況、新興技術の適格性認定制度等の情報収集を行った。また、DynaLux/c を認知させるための情報発信を実施した。

A. 研究目的

化学物質による胚・胎児発生への影響は、ヒトと実験動物の種差が大きいことが知られている。そのため、従来の発生毒性試験では複数の動物種を多数用いた動物実験によってヒトへの外挿性を高めてきた。しかしながら、このような試験系は高コストであるうえ、動物福祉の観点からも動物実験代替法の開発が強く求められている。一方で、受精卵から胎児に至るまでの複雑な発生過程を細胞レベルで正確かつ網羅的に再現することは非常に困難であり、現在のところ実用に耐える *in vitro* 試験系は確立されていない。

そこで、研究代表者らは、胚・胎児発生が少数のシグナル伝達相互作用によって制御される点に注目し、化学物質のシグナルかく乱作用を基盤とした発生毒性評価法「DynaLux/c」を開発してきた。本研究の目的は、この DynaLux/c を改良することで、有害性評価値の導出を可能にし、最終的にはヒトへの外挿性が高く、リスク評価が可能な *in vitro* 生殖発生毒性代替法を、新たな NAMs (New Approach Method) の試験法として確立するとともに、その公定化を目指している。

本分担研究では、昨年度に引き続き、この改良される試験法の確立・公定化に資することを目的として、試験法の国際標準化や OECD などにおけ

る試験法ガイドラインとしての公定化に必要な国内外の NAMs の開発状況やその適格性認定などを含む情報収集を行った。

B. 研究方法

米・EU を中心に、化学物質等の安全性やリスク評価において、試験動物を使用しない評価法へのパラダイムシフトが加速されつつある現状と、その行政的受け入れに関する国内外の状況の把握を目的として、規制関連国際会議 (OECD Advisory Group on Emerging Science in Chemicals Assessment (ESCA) (3/31-4/1、パリ (うち 4/1PM は WNT-37 との合同会議)、OECD Working Group of National Coordinators of the Test Guidelines Programme (WNT)-37 (4/1-4、パリ)、OECD Working Party on Hazard Assessment (WPHA) (6/24-26、web)、Global Coalition for Regulatory Science Research (GCRSR) & Global Summit on Regulatory Science (GSRS)25 (9/15-17、ローザンヌ)) や、国際毒性学会 (10/15-18、中国)、国内関連学会 (日本実験動物学会 (5/21-23、名古屋)、日本毒性学会 (7/2-4、沖縄)、レギュラトリーサイエンス学会 (9/5-6、東京)) に参加し、それぞれの発表の聴講や、意見交換を通じて、必要な情報の収集を行った。

(倫理面への配慮)
該当なし。

C. 研究結果及び考察

OECD では、WNT が主体となり、現在 OECD 試験法の公定化に関するガイダンスドキュメント (GD34、2005 年発布) の改訂作業が行われている。これまで一つの試験法が開発されてガイドラインとして認証されるまで 10 年ほどの時間を要しているところ、信頼性を損なうことなく、諸々の必要とされるリソースを最小化するための改訂を目指している。in vitro 試験については、OECD への提案までに準備すべき点 (readiness criteria) を明確化することで、OECD での議論の時間の短縮が期待される一方、試験法開発から公定化までの総時間の短縮は開発者側の取組に委ねられること、in silico 試験法については、FDA における原案作成が遅延しているものの、当該試験法の記述要領としての QMRF が制定されたことから、このものの利活用が図られるであろうこと、などの進捗があった。なお、行政利用に耐える信頼性確保のための試験法の評価手法そのものの議論もさることながら、validation に必要とされる経費も無視できない課題であり、包括的なガイダンスの成立が期待されている。

GSRS は各国の規制当局関連機関の連絡会議であり、GSRS 25 のテーマは“Building a Strong Regulatory Science with Tomorrow’s Technologies”として、これまで以上に規制利用を念頭に置いた AI の利活用に関する発表が多く見受けられた。昨年度 GSRS24 のテーマは“Digital Trans-formation in Regulatory Science”、次年度 GSRS26 のテーマは“Emerging Technologies and Intelligent Regulation”であり、一貫して新興技術の動向を把握し、如何に規制への利活用を図るかという点に主眼がおかれている。引き続き情報の収集に努めたい。

国際毒性学会並びに国内学会については、いずれも、シンポジストとして、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 日本動物実験代替法評価センター (JaCVAM) における、所

内外機関が開発した新たな試験法の公定化支援や、新たに公定化された OECD ガイドラインの本邦での行政受入提案といった活動を基軸として、海外状況、国内対応状況や導入に向けた今後の課題など収集した国際状況を含めた発表を行い、DynaLux/c の紹介にも努めた。

D. 結論

米・EU を中心に、化学物質等の安全性やリスク評価において、試験動物を使用しない評価法へのパラダイムシフトが加速されつつある現状と、その行政的受け入れに関する国内外の状況の把握を目的として、関連集会などに参加し、DynaLux/c をリスク評価に適用可能な試験法として認知させるための情報収集や情報発信を実施した。

E. 研究発表

論文発表

1. Matsushita K, Tsuji G, Akane H, Ishii Y, Takasu S, Ogawa K, Ito T, Yokoo H, Sennari G, Iwatsuki M, Hirose T, Hanaki H, Demizu Y, Hirabayashi Y, Saito Y, Honma M, Toyoda T: A 28-day subacute toxicity study of puberulic acid in CrI:CD(SD) rats. J Toxicol Pathol 2025, 38:223-36.
2. Inoue K, Hirabayashi Y, Azuma K: Detailed hazard assessment of ethylbenzene to establish an indoor air quality guideline in Japan. Environ Health Prev Med 2025, 30:34.

学会発表

1. 平林容子：非臨床安全性評価の国際動向と抗体医薬品評価における新規評価法 (NAMs) 活用への展望 第 146 回日本薬学会 (2026.3.27) 大阪
2. 平林容子：抗体医薬品の非臨床試験：NAMs 利用に関する現状と課題 第 4 回日本抗体学会学術大会 (2025.12.1) 大宮
3. 平林容子：NAMs 導入に向けた国内外の動向 (2025.10.31) 東京 PMDA 主催シンポジウム 国民が必要とする医薬品/医薬部外品への速やかなアクセスに向けて—NAMs の明日について考える—
4. Yoko Hirabayashi: Perspective on qualification of the microphysiological systems for regulatory use. IUTOX 17th ICTXVII (Beijing) 2025.10.16
5. 平林容子：日本における医薬品開発ツールの適格性認定策定に向けた取り組みについて

第 15 回レギュラトリーサイエンス学会学術大会 (2025.9.5) 東京

6. Yoko Hirabayashi: NAMs in the safety assessment of chemical substances in Japan 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025.7.3) 沖縄
7. 平林容子: 動物試験代替法利活用の現状と展望 第 72 回日本実験動物学会総会 (2025.5.22) 名古屋
8. 松下 幸平, 辻 巖一郎, 赤根 弘敏, 石井 雄二, 高須 伸二, 小川 久美子, 伊藤 貴仁, 横尾 英知, 出水 庸介, 平林 容子, 齋藤 嘉朗, 本間 正充, 豊田 武士: プベール酸のラットを用いた 28 日間反復経口投与毒性試験 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025.7.2) 沖縄
9. 西村 拓也, 平林 容子, 小川 久美子, 角田 聡, 鈴木 睦, 佐藤 玄, 豊田 武士, 高橋 祐次: 毒性試験用語集の改訂と利活用可能なデータベースの構築の取り組み 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025.7.4) 沖縄
10. Okubo Y, Mizota K, Murayama K, Matsuura R, Mootha A, Kitajima S, Hirabayashi Y, Nakajima Y, Fukuda J: Continuous Monitoring of Signal Disruption in Human iPSCs for Developmental Toxicity Assay. 20th INTERNATIONAL CONGRESS OF DEVELOPMENTAL BIOLOGY (2025.6.18)
11. Okubo Y, Murayama K, Matsuura R, Mootha A, Hirabayashi Y, Nakajima Y, Fukuda J: Real-time Monitoring of Signal Disruption in Human iPSCs for Toxicity Assay. Joint Meeting of JSCB 77th & JSDB 58th (2025.7.16-17)
12. 村山航己, 佐藤 花音, 松浦利絵子, Archana Mootha, 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指標による精巣毒性物質の評価、第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025.7.2)
13. 佐藤花音, 村山航己, 松浦利絵子, Mootha Archana, 平林容子, 中島芳浩, 大久保佑亮, 福田淳二: ヒト iPS 細胞を用いた新型コロナウイルス感染症治療薬のシグナルかく乱を基

にした発生毒性評価、第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025.7.2)

14. 大久保佑亮, 松浦利絵子, 村山航己, 佐藤 花音, 石川亜佐美, 中元颯馬, 平林容子, 中島芳浩, 福田淳二: シグナルかく乱に着目した in vitro 発生毒性試験とそのリスク評価への展開、第 65 回日本先天異常学会学術集会 (2025.7.27)
15. 村山航己, 佐藤 花音, 松浦利絵子, 石川亜佐美, 中元颯馬, 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指標による精巣毒性物質の評価、第 65 回日本先天異常学会学術集会 (2025.7.25)
16. 村山航己, 佐藤 花音, 松浦利絵子, 石川亜佐美, 中元颯馬, 平林容子, 中島芳浩, 大久保佑亮, 山田隆志, 福田淳二: ヒト iPS 細胞を用いたシグナルかく乱指標による生殖毒性物質の評価、日本動物実験代替法学会 第 38 回大会 (2025.11.1)
17. 佐藤 花音, 村山航己, 松浦利絵子, 中元颯馬, 石川亜佐美, 平林容子, 中島芳浩, 大久保佑亮, 山田隆志, 福田淳二: ヒト iPS 細胞を用いたシグナルかく乱に基づく新型コロナウイルス感染症治療薬の発生毒性評価、日本動物実験代替法学会 第 38 回大会 (2025.11.1)
18. 中元颯馬, 村山航己, 佐藤花音, 松浦利絵子, 石川亜佐美, 平林容子, 中島芳浩, 福田淳二, 大久保佑亮, 山田隆志: ヒト iPS 細胞を用いた PFAS のシグナルかく乱作用を基にした発生毒性評価: PFAS への適用性と信頼性の検証、日本動物実験代替法学会 第 38 回大会 (2025.11.1)

G. 知的財産権の出願・登録状況

特許取得・実用新案登録・その他

なし

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Koki Murayama, Kashu Mizota, Rieko Matsuura, Yusuke Okubo, Yoshihiro Nakajima, Atsushi Suzuki, Junji Fukuda	Developmental Toxicity Assay Based on Real-Time Monitoring of Fibroblast Growth Factor Signal Disruption in Human Induced Pluripotent Stem Cells	Journal of Visualized Experiment	224	E68910	2025
小島肇夫	NAMsの開発	Cosmetic Science	6	28-35	2025
久木友花, 関根秀一, 田村亜紀子, 中川翔太, 額田祐子, 齋藤和智, 小野 敦, 桑形麻樹子, 廣田衛彦, 豊田明美, 畑尾正人, 高橋祐次, 足利太可雄, 山田隆志	医薬部外品申請におけるNext Generation Risk Assessment (NGRA) の活用に向けた事例研究—リードアクロスによる2-Isobutoxyethanolの発生毒性予測—	日本香粧品学会誌	49	264-274	2025
Matsushita K, Tsuji G, Akane H, Ishii Y, Takasu S, Ogawa K, Ito T, Yokoo H, Sennari G, Iwatsuki M, Hirose T, Hanaki H, Demizu Y, Hirabayashi Y, Saito Y, Honma M, Toyoda T	A 28-day subacute toxicity study of puberulic acid in Crl:CD(SD) rats	J Toxicol Pathol	38	223-236	2025
Inoue K, Hirabayashi Y, Azuma K	Detailed hazard assessment of ethylbenzene to establish an indoor air quality guideline in Japan	Environ Health Prev Med	30	34	2025
Miyata, R., Suzuki, M., Okazaki, Y., Iwai, K., Nishiwaki, N. and Nakajima Y	Takeda G protein-coupled receptor 5 and peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activation by pinocembrin and pinostrobin isolated from <i>Lindera sericea</i>	Int. J. Mol. Sci.	27	2045	2026
Seki, K., Kariya, K., Miyata, R., Sasaki, D., Kobayashi, Y., Ueno, K., Yanagita, R., Tahara, Y., Nakajima, Y. and Ishihara, A	Identification of new cyclocircadiens from <i>Cyclocybe erebia</i> and their effects on the circadian rhythm of human osteosarcoma cells	J. Nat. Prod.	89	421-432	2026
Sasaki, D., Kusamori, K., Itakura, S., Abe, H., Nakajima, Y. and Nishikawa, M	Future prospects for edible plant-derived nanoparticles as new functional food ingredients	Food Sci. Technol. Res.	3	219-233	2026
Wattaisong, P., Kantiwiriyanitch, C., Jitkaroon, W. Phintha, A., Klayparn, I., Lawan, N., Kamutira, P., Sasaki, D., Visitsatthawong, S., Maenpuen, S., Tinikul, R., Sucharitakul, J., Nishihara, R., Niwa, K., Nakajima, Y., Ohmiya, Y. and Chaiken, P.	Red-shifted d-luciferin analogues and their bioluminescence characteristics	RSC Chem. Biol.	7	67-80	2026
Chen, X., Rahman, A., Kitada, K., Wang, Y., Nakajima, Y., Liu, C., Taoka, R. and Nishiyama, A.	High salt-induced osmotic stress differentially modulates hepatocellular and renal carcinoma cell proliferation	Front. Oncol.	15	1693591	2025
Miyata, R., Tabei Y., Abe, H., Uetsumi, K., Fukuzaki, S., Azuma, S., Takaishi, Y., Kato, T. and Nakajima, Y.	Analysis of active components and NRF2 activation in olive leaf pressurized water extract	Luminescence	40	E70312	2025

JE. Yun, J. Seo, J. Koh, SA. Im, KY. Hong, Y. Son, DW. Jeong, J. Fukuda, JW. Park, YS. Chun	Cancer Manipulates Adjacent Adipose Tissue to Exploit Fatty Acids via HIF-1 α /CCL2/PPAR α Axis: A Metabolic Circuit to Support Tumor Progression	Advanced Science		e15186	2025
T. Asaba, S. Hamano, A. Nanmo, J. Seo, T. Kageyama, J. Fukuda	Human iPSC-Derived Cerebral Organoids Reveal Oxytocin-Mediated Protection Against Amyloid- β Pathology	Regenerative Therapy	30	259-267	2025
T. Kageyama, J. Seo, L. Yan, S. Hamano, J. Fukuda	Serotonin activates dermal papilla cells and promotes hair growth	Scientific Reports	15	24525	2025
T. Asaba, T. Osaki, K. Murayama, S. Hamano, T. Kageyama, J. Fukuda	Effects of vascular endothelial cells on the neurite outgrowth of nerve cells	Journal of Bioscience and Bioengineering	140	168-173	2025
Y. Migita, T. Kageyama, N. Ito, N. Esaka, A. Nanmo, J. Seo, Y. Lei, S. Hamano, and J. Fukuda	Preparation of hair follicle germs using centrifugal forces for hair regenerative medicine	Journal of Bioscience and Bioengineering	139	445-450	2025
DW. Jeong, JE. Yun, KH. Lee, GH. Moon, KY. Hong, JW. Park, J. Fukuda, YS. Lee, YS. Chun	Comprehensive understanding of context-specific functions of PHF2 in lipid metabolic tissues	Scientific Reports	15	9074	2025
J. Seo, K. Matsumoto, A. Nanmo, S. Tu, DW. Jeong, YS. Chun, L. Yan, T. Kageyama, J. Fukuda	The role of lipids in promoting hair growth through HIF-1 signaling pathway	Scientific Reports	15	4621	2025
S. Tu, T. Kageyama, J. Seo, Y. Zhou, J. Fukuda	Development of in vitro hair pigmentation model using hair follicle organoids	Journal of Bioscience and Bioengineering	139	141-146	2025
Kenji Ohya, Shouhei Hirose, Kohei Nishikaku, Takahiro Ohnishi, Kenichi Lee, Sunao Iyoda, Akiko Kubomura, Yukihiro Akeda, Katsumi Mizukami, Tomikatsu Suzuki, Kenji Takinami, Yuhji Takahashi, Makiko Kuwagata, Satoshi Kitajima, Takashi Inoue, Yukiko Hara-Kudo	Genomic features and pathogenicity of atypical diarrheagenic <i>Escherichia coli</i> from a large foodborne outbreak	International Journal of Food Microbiology	434	111134	2025

(1) 5-フルオロウラシル (5-FU)

Compound	Category	Indication	Treatment days, route, dosage,	Species	Results	NOAEL LOAEL (mg/kg/day)	memo	参考文献
5-フルオウラシル	P	医薬(抗悪性腫瘍代謝拮抗剤)		ヒト	錠剤およびドライシロップの経口摂取による副作用: 消化器、骨髄、神経系への影響(医療用医薬品集(2010)) GHS区分1(消化器系、骨髄、神経系)		ヒト所見は動物試験においても、再現(IARC 26(1981))	GHS分類(2010) 医療用医薬品集(2010)
				ヒト薬物動態	大腸癌61例に5-FU 300mg/m ² /dayを26週間まで持続静脈内投与した結果、5-FU 定常血中濃度の平均値は96ng/mLで、奏効度又は毒性と相関なし 癌患者5例に5-FU 500mg/bodyをone shot 静注後の平均血中濃度は、15分で15.3、30分で3.9、60分で0.35μg/mLと推移し、投与後90分には検出限界以下		中毒量大腸癌117例に平均5-FU 1,803mg/m ² を8時間で毎週静脈内投与した結果、5-FUの血中濃度が3,000μg/L以上で急性毒性が有意に出現 IF102	医薬品インタビューフォーム(5-FU注 250 mg/5-FU注 1000 mg (協和キリン株式会社))
					・癌患者5例に5-FU 500mg/bodyを単回静注後の平均血中濃度: 15分で15.3、30分で3.9、60分で0.35μg/mLと推移し、投与後90分には検出限界以下。 ・脳に移行 ・胎盤通過性あり、乳汁移行性資料無し			
					5-FU 250 or 370 mg/m ² /dayを休息静脈内投与 Cmax(μg/mL): 18.15±1.35, 48.4±7.69 T1/2(hr):0.06±0.01, 0.02±0.01 AUC(hrxμg/mL): 3.77±0.21, 13.61±2.30			
					遺伝毒性(陽性):染色体異常試験、小核試験 遺伝毒性(陰性):Ames試験 発がん性:IARCグループ3			NTP DB IARC 26 (1981) HSDB (2007)
			単回、経口	マウス(dd系)	LD50 = 226 mg/kg (雄)、247 mg/kg (雌)			医薬品インタビューフォーム(5-FU注 250 mg/5-FU注 1000 mg (協和キリン株式会社)) 社内資料、 宮崎英治ほか、基礎と臨床. 1974; 8: 2603-2640
			単回、静脈注射	マウス (dd系)	LD50 = 262 mg/kg (雄)、274 mg/kg (雌)			
			単回、経口	ラット (Wistar系)	LD50 = 781 mg/kg (雄)、653 mg/kg (雌)			
			単回、静脈注射	ラット (Wistar系)	LD50 = 640 mg/kg (雄)、669 mg/kg (雌)			
			90日間、経口 7.5, 15, 30, 42, 60 mg/kg/day	雌雄ラット	42mg/kg以上で死亡。 摂餌量及び体重の減少、赤血球数、白血球数及び血小板数の減少、骨髄での出血や造血細胞の減少、胸腺及び脾臓の萎縮、消化管障害(胃粘膜のびらんや粘膜の腺腔拡張、カタル性剥離) BUNの増加	30		
			6か月、経口 7.5, 15, 30, 42 mg/kg/day	雌雄ラット	42mg/kgの投与群で死亡 摂餌量の減少、体重増加抑制、消瘦 赤血球数及び白血球の減少傾向、骨髄での造血細胞の減少、胸腺細胞の減少、腸間膜リンパ節のリンパ球減少、消化管粘膜上皮のカタル性剥離、 肝臓での限局性の凝固壊死、腎臓での尿管上皮の変性	30		
			90日間、腹腔 7.5, 15, 30, 42, 60 mg/kg/day	雌雄ラット	30mg/kg以上の投与群で死亡 摂餌量及び体重の減少、赤血球数、白血球数及び血小板数の減少、骨髄での出血や造血細胞の減少、胸腺及び脾臓の萎縮、消化管障害(粘膜上皮の腺腔拡張、カタル性剥離など) BUNの増加	15		
			6か月、経口 5, 10, 20, 30 mg/kg/day	雌雄ラット	20mg/kg群で体重減少、造血機能の低下、ヘモグロビン、ヘマトクリットの減少、肝・腎機能の低下、肝・腎に変性像、骨形成の変化 30mg/kg群では約3週間の投与で約半数の死亡	10		
			受胎能及び着床までの初期胚発生に関する試験a) 腹腔 25, 50 mg/kg/day	ラット	受胎率の低下、胎児の発育遅延、着床前受精卵の死亡及びこれらに染色体異常	LOAEL25		24th Ed. USPDI® (米国薬局方医薬品情報集)
			胚・胎児発生に関する試験 経口 妊娠7～13日 5, 10, 15, 25 mg/kg/day	ラット	15mg/kg以上: 胎児:催奇形性(口蓋裂、四肢症等)、化骨抑制、発育抑制 新生児:児の減少、発育抑制等	10		宮崎英治ほか(1974)
			胚・胎児発生に関する試験 経口 妊娠7～13日 5, 10, 25, 30 mg/kg/day	マウス	25mg/kg以上 胎児:催奇形性(口蓋裂、四肢症等)、化骨抑制、発育抑制 新生児:児の減少、発育抑制等	10		IF (5-FU注 250 mg/5-FU注 1000 mg (協和キリン株式会社))
			胚・胎児発生に関する試験 静脈内 妊娠8～14日 8,16, 32mg/kg/day	マウス	16mg/kg以上投与群では胎児の死亡吸収、多指症、口蓋裂の発生が有意	8		IF (5-FU注 250 mg/5-FU注 1000 mg (協和キリン株式会社)) 社内資料

(2)ボウ酸

Compound	Category	Indication	Treatment days, route, dosage,	Species	Results	NOAEL LOAEL (mg/kg/day)	memo	参考文献
Boric Acid	P	安定(化)剤、緩衝剤、等張化剤、pH調節剤、防腐剤、保存剤、溶媒補助剤、結晶囊の洗浄・消毒薬、殺虫剤			ヒ推定致死量(経口)は成人15～20g、幼児5～6g、乳児2～3g(乳幼児致死率は70.2%)。			丸石製薬株式会社、急性中毒情報 日本医薬品添加剤協会
					変異原性: 陰性(Ames、小核、染色体異常) ACGIH(2005)でA4(無機)有機化合物として)、IRIS(2004)でグループEに分類 局所刺激性あり(軽度から中等度)			GHS分類(2013)
			単回、経口	ラット	LD50 > 4,000 mg/kg			GHS分類(2013) NTP TR324(1987); ATSDR(2007)
			単回、経皮	ラット	LD50 > 2,000 mg/kg			GHS分類(2013) EU-RAR(2007)
			単回、経皮	ウサギ	LD50 > 2,000 mg/kg			GHS分類(2013) EPA Pesticides RED(2006)
		眼刺激性 30分間隔で1日15回、2日間 頻回点眼		ウサギ	ウサギの右眼に人工涙液マイティア点眼液を、対照として左眼に生理食塩液を1回1滴、30分間隔で1日15回、2日間頻回点眼した試験では、対照眼と比較して差は認められなかった。フルオレセインによる角膜染色症については、人工涙液マイティア点眼液投与群に軽微な散在性染色症が認められた。			千寿製薬社内資料
		2, 4 週 経口、♂ 0, 125, 250, 500 mg/kg		ラット(Wistar系)	(2 週間) 500 mg/kg/日:ステップ 19 精子細胞の精巣遺残 (4 週間) 250 mg/kg/日以上:精子数減少、精子の運動性低下 500 mg/kg/日:ステップ 19 精子細胞の精巣遺残 2, 4 週間のいずれの組合も、体重、前立腺、精のう腺、精巣及び精巣上体重量への影響なし 剖検は生検器官のみ			NITE初期リスク評価書(2008) Kudo et al., 2000
		9週 経口、♂ 0, 3000, 4500, 6000, 9000 ppm(0, 26.3, 39.4, 52.5, 78.8 mg B/kg/日相当)		ラット(F344)	3,000 ppm 以上:精子形成障害 6,000 ppm 以上:精巣萎縮 9,000 ppm:経経量減少、体重増加抑制 剖検は精巣のみ			NITE初期リスク評価書(2008) Ku et al., 1993
		90日間 経口、♀ ボウ酸として0, 26.3, 39.4, 52.5, 78.8 mg B/kg/日相当)		ラット(SD系)	525 ppm 以上: 雄: 精巣萎縮 1,750 ppm: 雌雄: 浅速呼吸、眼の炎症、四肢の腫脹、四肢及び尾の表皮剥離、体重増加抑制 5,250 ppm: 3-6 週間以内に全例死亡			NITE初期リスク評価書(2008) Weir & Fisher, 1972
		2年間 経口 ほう素として0, 117, 350, 1,170 ppm(0, 5.9, 17.5, 58.5 mg B/kg/日相当)		ラット(SD系)	1,170 ppm: 雌雄:1か月後あたりから一般状態変化(被毛粗剛、背弯姿勢、四肢腹側の腫脹及び表皮剥離、眼瞼の炎症、眼脂など)、体重増加抑制 雄: 精細管萎縮 雄: ヘマトクリット値及びヘモグロビン量の減少	17.5		NITE初期リスク評価書(2008) Weir & Fisher, 1972
		2年間 経口 ほう素として0, 58, 117, 350 ppm(0, 1.5, 2.9, 8.8 mg B/kg/日相当)		イヌ(ビーグル)	投与に関連した変換なし	8.8		NITE初期リスク評価書(2008) Weir & Fisher, 1972
		連続交配試験 経口 交配前7日間、連続交配98日 間、交配交配終了まで 0, 1,000, 4,500, 9,000 ppm (0, 152, 636, 1,262 mg/kg/日; 0, 26.6, 111, 221 mgB/kg/日)		マウス(ICR)	4,500 ppm: 出生児数減少、出生児体重減少 4,500 ppm 以上: 受精(胎)能力低下 9,000 ppm: 妊娠せず (交配交配) 連続交配による最後の腹元の哺乳後、対照群の雌雄動物と4,500 ppm 群の雌雄動物の間で交配交配することにより、4,500 ppm 以上の群で みられた受精能力の低下が雄雄動物に原因があることが判明	636		NITE初期リスク評価書(2008) Fait et al., 1991; U.S. NTP, 1990
		三世代繁殖試験 経口 ほう素として0, 117, 350, 1,170 ppm(0, 5.9, 17.5, 58.5 mg B/kg/日相当)		ラット	1,170 ppm: 精巣萎縮、排卵数減少、妊娠せず 1,170 ppm 群の雌と対照群の雄との交配で、妊娠みられず	17.5		NITE初期リスク評価書(2008) Weir & Fisher, 1972
		催奇形性試験 経口 妊娠0～17日 0, 1,000, 2,000, 4,000 ppm (0, 248, 452, 1,003 mg/kg/日; 0, 43.4, 79.0, 175.3 mg B/kg/ 日)		マウス(ICR)	母動物: 1,000 ppm 以上: 用量依存性の尿管の拡張/再生 4,000 ppm: 体重増加抑制、腎臓相対重量増加 児動物: 2,000 ppm 以上: 胎児体重減少 4,000 ppm: 奇形増加(主として第13肋骨短縮)、吸収胚増加	母動物: 1,000 ppm(248 mg/kg/日: 43.3 mg B/kg/ 日) 未満 発生毒性: 1,000 ppm (248 mg/kg/日: 43.3 mg B/kg/日)		NITE初期リスク評価書(2008) Hemdel et al., 1992; U.S. NTP, 1989
		催奇形性試験 経口 妊娠0～20日 0, 250, 500, 750, 1,000, 2,000 ppm(0, 19, 36-37, 55- 56, 74-76, 143-145 mg/kg/ 日: 0, 3.3, 6.3-6.5, 9.6-9.7, 12.9-13.3, 25.0-25.3 mg B/kg/ 日)		ラット(SD系)	母動物 2,000 ppm: 妊娠 20 日 のみ腎臓相対重量増加 児動物: 1,000 ppm 以上: 胎児体重減少、第13肋骨短縮及び肋骨肋骨 2,000 ppm: 生後 21 日 の児動物に第13肋骨短縮	発生毒性 NOAEL: 妊娠 20 日: 750 ppm (55 mg/kg/日: 9.6 mg B/kg/日) 生後 21 日: 1,000 ppm (74 mg/kg/日: 12.9 mg B/kg/日)		NITE初期リスク評価書(2008) Price et al., 1996
		催奇形性試験 経口 妊娠0-20日(0-4,000 ppm) 妊娠6-15日(8,000 ppm)		ラット(SD系)	母動物: 2,000 ppm 以上: 肝臓及び腎臓の相対重量増加 4,000 ppm 以上: 体重増加抑制 8,000 ppm: 経経量減少、腎臓相対重量増加 児動物: 1,000 ppm 以上: 胎児体重減少 2,000 ppm 以上: 奇形増加(主として側脳室拡張、第13肋骨欠損) 8,000 ppm: 胎児死亡率増加	母動物毒性: 1,000 ppm (78 mg/kg/日: 13.6 mg B/kg/日) 発生毒性: 1,000 ppm(78 mg/kg/日: 13.6 mg B/kg/ 日) 未満	0, 1,000, 2,000, 4,000, 8,000 ppm(0, 78, 163, 330, 539 mg/kg/日: 0, 13.6, 28.5, 57.7, 94.2 mg B/kg/日)	NITE初期リスク評価書(2008) Hemdel et al., 1992; U.S. NTP, 1990
		催奇形性試験 経口 妊娠6-15日 0, 4,000, 5,000, 6,000, 8,000 ppm		ラット(SD系)	母動物: 4,000 ppm 以上: 経経量減少、体重増加抑制 5,000 ppm以上: 腎臓相対重量増加 8,000 ppm: 肝臓相対重量増加 児動物: 4,000 ppm 以上: 胎児死亡率増加、胎児体重減少、頭蓋顔面の奇形 (主として無眼球、小眼球)、中枢神経系の奇形増加(主として脳室拡張、水頭症)	母動物毒性: 125 mg/kg/ 日 (21.9mg B/kg/日) 発生毒性: 125 mg/kg/ 日 (21.9 mg B/kg/日)	(0, 283-299, 361-368, 432- 434, 549-562 mg/kg/日: 0, 49.5-52.3, 63.1-64.4, 75.6-76.0 , 96.1-98.4 mg B/kg/日)	NITE初期リスク評価書(2008) U.S. NTP, 1994
		催奇形性試験 経口 妊娠6-19日 0, 62.5, 125, 250 mg/kg/日 (0, 10.9, 21.9, 43.8 mgB/kg/ 日)		ウサギ	母動物: 250 mg/kg/日: 経経量減少、体重の低値、腫出血、黄体数減少、吸収胚増加、腎相対 重量増加 児動物: 250 mg/kg/日: 胎児死亡率増加、心血管系の奇形増加(主としてCVSD; 心臓中隔欠損)	母動物毒性: 125 mg/kg/ 日 (21.9mg B/kg/日) 発生毒性: 125 mg/kg/ 日 (21.9 mg B/kg/日)		NITE初期リスク評価書(2008) Price et al., 1996b; U.S.NTP, 1991

(3) シメチジン

Compound	Category	Indication	Treatment days, route, dosage,	Species	Results	NOAEL LOAEL (mg/kg/day)	memo	参考文献									
シメチジン	N	医薬 (H2-受容体拮抗剤)			変異原性なし(小核)												
					1)単回投与 (健康成人男性) ・200 mg/kg経口投与後の結果は下表。 ・400mg 1回経口投与後の血中濃度及びAUCは、200mg 1回投与後の約2倍の値を示すが、血中濃度からの消失半減期は約2時間と差がみられない。 [健康成人男性 12 例、シメチジン 200mg 単回経口投与 ³⁸⁾] <table><tr><td>AUC (0～6 時間) (μg・hr/mL)</td><td>3.72±0.30</td></tr><tr><td>最高血中濃度 (μg/mL)</td><td>1.25±0.16</td></tr><tr><td>最高血中濃度到達時間 (hr)</td><td>1.9±0.2</td></tr><tr><td>尿中排泄率 (0～24 時間、%)</td><td>59.8±2.2</td></tr><tr><td>消失半減期 (hr)</td><td>2.17±0.14</td></tr></table>	AUC (0～6 時間) (μg・hr/mL)	3.72±0.30	最高血中濃度 (μg/mL)	1.25±0.16	最高血中濃度到達時間 (hr)	1.9±0.2	尿中排泄率 (0～24 時間、%)	59.8±2.2	消失半減期 (hr)	2.17±0.14		医薬品インタビューフォーム(タガメット注射液 200 mg, タガメット錠200 mg (住友ファーマ株式会社)) 38)野口英世ほか: 基礎と臨床. 1980; 14(10): 2841-2849
AUC (0～6 時間) (μg・hr/mL)	3.72±0.30																
最高血中濃度 (μg/mL)	1.25±0.16																
最高血中濃度到達時間 (hr)	1.9±0.2																
尿中排泄率 (0～24 時間、%)	59.8±2.2																
消失半減期 (hr)	2.17±0.14																
			単回、経口	マウス	LD50 = 3,280 mg/kg (雄), 3,190 mg/kg (雌)			医薬品インタビューフォーム(タガメット注射液 200 mg, タガメット錠200 mg (住友ファーマ株式会社)) 福原幸輝ほか: 基礎と臨床. 1980; 14(10): 2806-2818									
			単回、腹腔内	マウス	LD50 = 387 mg/kg (雄), 350 mg/kg (雌)			医薬品インタビューフォーム(タガメット注射液 200 mg, タガメット錠200 mg (住友ファーマ株式会社)) 福原幸輝ほか: 基礎と臨床. 1980; 14(10): 2806-2818									
			単回、皮下	マウス	LD50 = 640 mg/kg (雄), 638 mg/kg (雌)			同上									
			単回、静脈	マウス	LD50 = 192 mg/kg (雄), 205 mg/kg (雌)			同上									
			単回、経口	ラット(Wistar系)	LD50 > 7,200 mg/kg (雄)、> 7,200 mg/kg (雌)			医薬品インタビューフォーム(カイトック細粒 40% (藤本製薬株式会社)) 北尾 勉 他:薬理と治療. 1983; 11(5), 1685-1691									
			単回、腹腔内	ラット(Wistar系)	LD50 = 460 mg/kg (雄), 328 mg/kg (雌)			同上									
			単回、皮下	ラット(Wistar系)	LD50 = 910 mg/kg (雄), 860 mg/kg (雌)			同上									
			単回、静脈	ラット(Wistar系)	LD50 = 168 mg/kg (雄), 235 mg/kg (雌)			同上									
			単回、経口	ウサギ (日本白色種)	LD50 > 8,600 mg/kg (雄)			同上									
			単回、腹腔内	ウサギ (日本白色種)	LD50 = 1,063 mg/kg (雄)			同上									
			単回、静脈	ウサギ (日本白色種)	LD50 = 164 mg/kg (雄), 203 mg/kg (雌)			同上									
			6か月、静脈 10～40 mg/kg	犬(ビーグル)	投与直後一過性の心拍数の増加 雄で性腺重量の減少 雌で乳汁分泌消失			医薬品インタビューフォーム(タガメット注射液 200 mg, タガメット錠200 mg (住友ファーマ株式会社)) 福原幸輝ほか: 基礎と臨床. 1980; 14(10): 2806-2818									
			30日、経口 150、450、1,350 mg/kg	ラット (Wistar系)	1,350 mg/kg: 雄: 精巣、前立腺、精巣上体の軽度の萎縮 雌: 肝臓重量の増加	450		医薬品インタビューフォーム(タガメット注射液 200 mg, タガメット錠200 mg (住友ファーマ株式会社)) 福原幸輝ほか: 基礎と臨床. 1980; 14(10): 2806-2818									
			6か月、経口 150、450、1,350 mg/kg	ラット (Wistar系)	450 mg/kg以上: 雄: 精巣・前立腺・精のう腺重量の減少 1,350 mg/kg: 雌雄: 肝臓重量増加 雄: 体重増加抑制、前立腺・精のう腺・精巣の萎縮 雌: 体重増加、副腎重量減少、卵巣重量増加	150		医薬品インタビューフォーム(カイトック細粒 40% (藤本製薬株式会社)) 北尾 勉 他:薬理と治療. 1983; 11(5), 1703-1718									
			24か月、経口 150～950 mg/kg	ラット	胃の悪性所見は認められなかった			医薬品インタビューフォーム(タガメット注射液 200 mg, タガメット錠200 mg (住友ファーマ株式会社))									
			385週間、経口 144 mg/kg	イヌ(ビーグル)	胃の悪性所見は認められなかった			医薬品インタビューフォーム(タガメット注射液 200 mg, タガメット錠200 mg (住友ファーマ株式会社))									
			妊娠前及び妊娠初期投与試験、経口 ～2,000 mg/kg	ラット (Wistar系)	高投与群 (2,000 mg/kg) においても異常は認められなかった	2000		医薬品インタビューフォーム(タガメット注射液 200 mg, タガメット錠200 mg (住友ファーマ株式会社)) 平川哲考ほか: 基礎と臨床. 1980; 14(10): 2819-2831									
			器官形成期投与試験、経口 ～2,000 mg/kg	ラット	高投与群 (2,000 mg/kg) においても異常は認められなかった	2000		同上									
			器官形成期投与試験、静脈 ～100 mg/kg	ウサギ	高投与群 (100 mg/kg) においても異常は認められなかった	100		同上									
			周産期及び授乳期投与試験、経口 ～2,000 mg/kg	ラット	高投与群 (2,000 mg/kg) においても異常は認められなかった	2000		同上									

(4) ジメチルフタレート

Compound	Category	Indication	Treatment days, route, dosage,	Species	Results	NOAEL LOAEL (mg/kg/day)	memo	参考文献
ジメチルフタレート	N	可塑剤			皮膚刺激性なし 眼刺激性:軽度の結膜刺激 変異原性なし(染色体異常試験、Ames, in vivo 優性致死)			GHS分類(2013) ACGIH (7th, 2006)
					・ヒト吸入暴露による一日暴露量の予測最大量(室内空気濃度終日曝露時):1.9 µg/kg/day(濃度6.3 µg/m3、一般環境大気値換算:0.0014 µg/kg/day(濃度0.0045 µg/m3) ・経口暴露による一日暴露量の予測最大量:5.2 µg/kg/day(食物経路が5.2 µg/kg/day) 全暴露経路からの一日暴露量の予測最大量(室内空気・濃度終日曝露時):7.1 µg/kg/day(一般環境大気値換算:と2 µg/kg/day)			化学物質の環境リスク初期評価(平成9-12年度)結果【39物質】
			単回、経口	ラット	LD50 = 6.8 g/kg			GHS分類(2013) 環境省リスク評価書第1巻(2022)p.392
			単回、経口	ラット	LD50 = 8,200 mg/kg			GHS分類(2013) NTP TR429 (1995)
			単回、経皮	ウサギ	LD50 ≧ 10,000 mg/kg			GHS分類(2013) NTP TR429 (1995)
			33日間、経皮 1750 mg/kg	ウサギ	区分2を超える用量(ガイダンス値換算値: 1,750 mg/kg/day)を適用しても毒性影響は見られていない。			GHS分類(2013) ACGIH (7th, 2006)
			33日間、経皮 4 mL/kg (閉塞適用)	ウサギ	死亡、臨床所見なし。臓器重量、病理所見はみられず。ヘマトクリット値のわずかな減少			ACGIH (7th, 2006)
			2年間、混餌 2～8%(餌中濃度)	雌ラット	2%以上: 成長の変化 8%: 慢性腎症			ACGIH (7th, 2006)
			5日間、腹腔内 3.8 mmol/kg (0.7 g/kg)	ラット	肝臓、肺のシトクロムP450濃度のわずかな変化			ACGIH (7th, 2006)
			妊娠5-15日、混餌0、0.25、1.0、5.0 %	ラット(SD系)	母動物 5%: 体重低下 胎児: 有意な影響は認められず	発生毒性の NOAEL: 3.57 g/kg/day	(換算値:0、0.2、0.84、3.57 g/kg/day)	環境省リスク評価書第1巻(2022)p.392
			妊娠14日～出産後3日、混餌 750 mg/kg	雌ラット(SD系)	影響なし	750		環境省リスク評価書第1巻(2022)p.392

(5) レナリドミド

Compound	Category	Indication	Treatment days, route, dosage,	Species	Results	NOAEL LOAEL (mg/kg/day)	memo	参考文献																								
レナリドミド		抗造血管悪性腫瘍剤			遺伝毒性:陰性(復帰突然変異、マウスリンフォームTK試験、染色体異常試験、小核)			医薬品インタビューフォーム(レブラミドカプセル2.5mg レブラミドカプセル5mg (プリストル・マイヤーズ スクイブ株式会社))																								
					健康成人にレナリドミド3用量(5mg注)、10mg、20mg注))を単回経口投与したときのレナリドミドの薬物動態パラメータ:レナリドミドの血漿中濃度は投与約0.5～1時間後に最高値に達し、t1/2は約2～3時間。 <table><tr><td>用量</td><td>5mg (7例)</td><td>10mg (7例)</td><td>20mg (7例)</td></tr><tr><td>Cmax (ng/mL)</td><td>113±35</td><td>227±46</td><td>521±195</td></tr><tr><td>AUC₀₋₂₄ (ng・h/mL)</td><td>345±59</td><td>727±115</td><td>1462±174</td></tr><tr><td>tmax (h)</td><td>1.0 (0.50, 2.5)</td><td>1.0 (0.50, 1.0)</td><td>0.50 (0.50, 1.5)</td></tr><tr><td>t_{1/2} (h)</td><td>2.28±0.48</td><td>2.36±0.41</td><td>2.24±0.42</td></tr><tr><td>平均値±標準偏差</td><td></td><td></td><td></td></tr></table>	用量	5mg (7例)	10mg (7例)	20mg (7例)	Cmax (ng/mL)	113±35	227±46	521±195	AUC ₀₋₂₄ (ng・h/mL)	345±59	727±115	1462±174	tmax (h)	1.0 (0.50, 2.5)	1.0 (0.50, 1.0)	0.50 (0.50, 1.5)	t _{1/2} (h)	2.28±0.48	2.36±0.41	2.24±0.42	平均値±標準偏差						レナミドミドカプセル2.5 mg, 5 mg「サワイ」添付文書
用量	5mg (7例)	10mg (7例)	20mg (7例)																													
Cmax (ng/mL)	113±35	227±46	521±195																													
AUC ₀₋₂₄ (ng・h/mL)	345±59	727±115	1462±174																													
tmax (h)	1.0 (0.50, 2.5)	1.0 (0.50, 1.0)	0.50 (0.50, 1.5)																													
t _{1/2} (h)	2.28±0.48	2.36±0.41	2.24±0.42																													
平均値±標準偏差																																
		安全性薬理、経口 500～2000 mg/kg 中枢神経系・一般症状及び行動観察		ラット	覚醒下 一般症状及び行動に及ぼす影響なし			医薬品インタビューフォーム(レブラミドカプセル2.5mg レブラミドカプセル5mg (プリストル・マイヤーズ スクイブ株式会社))																								
		安全性薬理、 22.1～786.7 μM 心血管系・HERGチャネル		HERGチャネル 発現HEK293細胞	HERGチャネル電流にほとんど影響を及ぼさなかった。			同上																								
		安全性薬理、静脈 2～20 mg/kg 心血管系・心血管系パラメータ		イス(麻酔下)	生理学的に意味のある変化は認められなかった。			同上																								
		安全性薬理、経口 1～6 mg/kg 心血管系・心電図所見		サル(覚醒下)	異常な心電図所見は認められなかった。			同上																								
		安全性薬理、静脈内 2～20 mg/kg 呼吸器系・呼吸器系パラメータ		イス(麻酔下)	生理学的に意味のある変化は認められなかった。			同上																								
		単回、経口、2000 mg/kg		マウス	概略の致死量 > 2,000 mg/kg			同上																								
		単回、静脈内、40 mg/kg		マウス	概略の致死量 > 40 mg/kg			同上																								
		単回、経口、2000 mg/kg		ラット	概略の致死量 > 2,000 mg/kg			同上																								
		単回、静脈内、40 mg/kg		ラット	概略の致死量 > 40 mg/kg			同上																								
		26週間、経口 75、150、300 mg/kg/日		ラット	75 mg/kg/日以上: 雄:腎盂の拡張沈着(投薬に起因した腎実質性の変化ではなく、レナリドミド及びその代謝物の腎排泄に関連した尿組成の変化に関連した所見と推察) 300 mg/kg/日: 雄:体重増加抑制及び摂餌量低下、肝臓重量の低下	150		同上																								
		52週間、経口 1、2、4、6 mg/kg/日		カンクイザル	1及び2 mg/kg/日: 白血球数の軽度低下(2 mg/kg/日群のみ、回復性有)、M/E比の軽度低下(骨髄検査)、胸腺萎縮 4及び6 mg/kg/日: 一般状態の悪化、死亡及び瀕死状態が観察されたため投与を20週に終了	2		同上																								
		受胎能及び初期胚発生に関する試験 雌:交配2週間前～妊娠6日 雄:交配2週間前～交配開始4週間後、経口 100、300、500 mg/kg/日		ラット	投与による影響なし	500		同上																								
		胚・胎児発生に関する試験 妊娠6～17日、経口 100、300、500 mg/kg/day		ラット	母動物:500 mg/kg/日:体重増加抑制及び摂餌量の低下 胚・胎児毒性:影響なし	母動物:300 胎児:500		同上																								
		胚・胎児発生に関する試験 妊娠7～19日、経口 3、10、30 mg/kg/day		ウサギ	母動物:10 mg/kg/日以上: 体重増加抑制及び摂餌量の低下、肺の中葉欠損の頻度増加 胚・胎児毒性:10 mg/kg/日以上: 着床後胚損失の増加(死亡胎児有)、胎児体重の低下、生存胎児:皮膚変色、肝臓の斑点、前頭鼻骨縫合異常の頻度増加、頭蓋骨の軽度な骨化変異及び前肢中手骨の軽度骨化遅延 30 mg/kg/日:四肢の形態異常	母動物(一般毒性・生殖能)、胎児:3 mg/kg/日		同上																								
		胚・胎児発生に関する試験 妊娠20～50日、経口 0.5、1、2、4 mg/kg/day		カンクイザル	母動物毒性:所見なし 胚・胎児毒性: 0.5 mg/kg/日以上: 四肢の奇形(0.5mg/kg/日群:硬直かつ軽度の下肢回転異常(1匹)、4mg/kg/日群:四肢弯曲、短縮、奇形、回転異常、一部欠損並びに欠指又は多指) 0.5及び4mg/kg/日: 直腸内容物の重量の充満を伴う鎮紅 2及び4mg/kg/日: 胎児各1匹に尾の180°の弯曲 4 mg/kg/日: 内臓検査に異常あり	母動物:4 胎児:決定できなかった		同上																								
		出生前及び出生後の発生並びに母動物の機能に関する試験 妊娠6日-分娩21日、経口、 100、300、500 mg/kg/日		ラット	母動物: 500 mg/kg/日:軽度の体重増加抑制 出生児毒性:300 mg/kg/日以上: 雄:性成熟(包皮分離)に軽微な遅延	母動物:300 出生児:100 生殖能:500		同上																								

(6) 炭酸リチウム(塩化リチウム)

Compound	Category	Indication	Treatment days, route, dosage,	Species	Results	NOAEL LOAEL (mg/kg/day)	memo	参考文献
炭酸リチウム (塩化リチウム)	P	医薬原料、溶 接用フラックス、 熱交換用媒 体、乾燥剤、リ チウム電池原 料			治療上有効な血中濃度：血清リチウム濃度0.3～1.2mEq/L(14) 臨床試験で確認された血中濃度 1) 単回投与 健康成人に炭酸リチウム200mgを食後単回経口投与 Cmax (mEq/L) 0.22、Tmax (hr) 2.6、T1/2 (hr) 18、AUC (mEq・hr/L) 2.26 一般的に血中濃度が1.5mEq/Lを超えると中毒域 乳汁移行あり			医薬品インタビューフォーム(リーマス錠100/ リーマス錠200 (大正製薬株式会社))
					本剤の承認された用法及び用量の炭酸リチウムとして、成人では通常1日400～600mgより開始し、1 日2～3回に分割経口投与する。以後3日ないし1週間毎に、1日通常1200mgまでの治療量に漸増す る。 改善がみられたならば症状を観察しながら、維持量1日通常200～800mgの1～3回分割経口投与に 漸減する。			同上
					局所刺激性あり(皮膚、眼) 遺伝毒性(Ames陰性、染色体異常試験：陽性、小核試 験陽性)			GHS分類(2010)
			安全性薬理 呼吸・循環系に対する作用 2×10 ⁻³ ～3×10 ⁻³ g/mL	in vitroウサギ	2×10 ⁻³ ～3×10 ⁻³ g/mL: 影響なし 10 ⁻² ～2×10 ⁻² g/mL: 収縮傾向			医薬品インタビューフォーム(リーマス錠100/ リーマス錠200 (大正製薬株式会社))
			安全性薬理 呼吸・循環系に対する作用、 血圧 50～200 mg/kg	ラット	一過性の下降ののち、持続性の昇圧 (中枢破壊ラットでは昇圧はみられない)			医薬品インタビューフォーム(リーマス錠100/ リーマス錠200 (大正製薬株式会社))
			安全性薬理 呼吸・循環系に対する作用 静脈、100 mg/kg	ネコ	一過性の下降ののち、持続性の昇圧 (中枢破壊ネコでも同じ)			仲沢政雄ほか：基礎と臨床。1973;7(6)： 1273-1277
			安全性薬理 呼吸・循環系に対する作用、 血圧 呼吸、血圧、心電図、静脈 20～100 mg/kg	ウサギ	用量依存性の降圧と呼吸促拍、心電図には変化なし			・小澤 光ほか：日薬理誌。1974;70(2)：215- 230 ・金野惣平：東京医科大学雑誌。1961;19 (5)：2379-2389 ・承認時資料：炭酸リチウムの一般薬理作用 補遺 ・承認時資料：イヌ循環系および平滑筋にお よぼす炭酸リチウム経口投与の影響
			安全性薬理 呼吸・循環系に対する作用、 血圧 呼吸、血圧、心電図、静脈 20～80 mg/kg	イヌ	心収縮力・心拍出量の増加			
			単回：経口	マウス(dd系)	LD50 = 888 mg/kg (雄)、826 mg/kg (雌)			GHS分類 (2010)
			単回：静脈	マウス(dd系)	LD50 = 563 mg/kg (雄)、497 mg/kg (雌)			GHS分類 (2010)
			単回：経口	ラット	LD50 = 526-840 mg/kg			GHS分類 (2010)
			1か月、経口 30、45、78、100、150 mg/kg/ 日	ラット(Wistar系)	100 mg/kg/日： わずかに体重増加抑制 150 mg/kg/日： 消化管系のカタル、副腎、腎、心、甲状腺などの臓器重 量比の増加、甲状腺小胞の小型化、副腎皮質細胞の腫 大ならびに脳、心、腎などの水腫性変化	78		医薬品インタビューフォーム(リーマス錠100/ リーマス錠200 (大正製薬株式会社)) 新保幸太郎ほか：基礎と臨床。1973;7(6)： 1278-1297
			6か月、12か月、経口、 40、80、100、120 mg/kg	ラット(Wistar系)	100 mg/kg/日以上： 消化管系のカタル、副腎、腎、心、甲状腺などの臓器重 量比の増加、甲状腺小胞の小型化、副腎皮質細胞の腫 大ならびに脳、心、腎などの水腫性変化	80		同上
			12か月、経口、 140 mg/kg	ラット(Wistar系)	消化管系のカタル、副腎、腎、心、甲状腺などの臓器重 量比の増加、甲状腺小胞の小型化、副腎皮質細胞の腫 大ならびに脳、心、腎などの水腫性変化			同上
			器官形成期、経口 妊娠6-15日 200、465 mg/kg	マウス (HaM/ICR)	200 mg/kg/日： 口蓋裂0.4% 465 mg/kg/日： 口蓋裂16.0 %	200		医薬品インタビューフォーム(リーマス錠100/ リーマス錠200 (大正製薬株式会社)) Szabo K.T.:Nature. 1970;225(5227)
			器官形成期、経口 Li2CO3 妊娠7-12日 100、200、400 mg/kg	マウス (ICR/JCL)	200 mg/kg/日： 外形異常1.7% 400 mg/kg/日： 外形異常2.5%	100		医薬品インタビューフォーム(リーマス錠100/ リーマス錠200 (大正製薬株式会社)) 仲沢政雄ほか：基礎と臨床。1973;7(8)： 1736-1748
			器官形成期、経口 妊娠9-14日 50、100、200 mg/kg	ラット(Wistar)	100 mg/kg/日以上： 腰肋骨の増加	50		医薬品インタビューフォーム(リーマス錠100/ リーマス錠200 (大正製薬株式会社)) Gralla E.J., et al.:Toxicol Appl Pharmacol. 1972;21(3)：428-433
			器官形成期、腹腔内or皮下 妊娠4-19日を3パターン 初回:212 mg/kg、 2回目以降:85 mg/kg/日	ラット(Wistar)	下肢異常1例(0.65%)			医薬品インタビューフォーム(リーマス錠100/ リーマス錠200 (大正製薬株式会社)) Johansen K.T.:Lancet. 1971;1(7707):1026- 1027
			生殖発生毒性		・妊娠第1三半期中の妊婦のリチウム使用が心奇形(エプスタイン 奇形と対応した右心室の流出路の 閉鎖障害)のリスク増加と関連あり(疫学研究)。 ・妊婦のリチウム使用と心奇形のリスク増加の相関度は従来考えられていたよりも低いとの報告がある が、これはリチウム使用の妊婦では流産(自然流産及び治療的流産)の頻度が高いこと、リチウム が処方される妊婦の数が限られていることが関連していると考えられる(実験動物においても神経発 生影響、胎児体重及び同胞児数の減少が認められている。)			GHS分類 (2010) EU CLP CLH (2021)
			生殖発生毒性		・ヒトの母乳及び乳児の血清中にリチウムが検出された。 ・授乳中のみリチウムにばく露された母ラットの児動物では腎臓と甲状腺機能への影響に加えて、新 生児では排出系の発達が未熟なためリチウムの排泄に時間がかかることから、リチウム治療を実施し た母親の母乳で育てられた子供の健康には懸念がある。			GHS分類 (2010) EU CLP CLH (2021)

7) メトトレキサート

Compound	Category	Indication	Treatment days, route, dosage,	Species	Results	NOAEL LOAEL (mg/kg/day)	memo	参考文献
メトトレキサート	P	医薬（葉酸代謝拮抗剤・抗リウマチ剤）			30-90%が消化管から吸収、血中濃度は1-2時間後にピークとなり、24時間以内に88-95%が尿中から消失。 メトトレキサート9 mg内服:Cmax500-600µg/L リウマトレックス2 mg×3回投与:Cmax0.1-1µM (分子量454.44g) 経口投与後、腎臓から主に排泄。一部肝臓で代謝される(腎機能低下時に血中濃度上昇)			中島重矢子 Clin Rheumatol Rel Res, 2023
					シミュレーションによるメトレート錠2 mgの血中濃度推移:Cmax 72-120 ng/mL (投与1時間後)		シミュレーションによるメトレート錠2 mgの血中濃度推移による図あり	中田雄一郎ら、臨床リウマチ 2008
			安全性薬理、呼吸・循環器系、 静脈内、1、3、10 mg/kg	雄イヌ（ビーグル）	10 mg/kgで心拍数及び頸動脈血流量の軽微な減少			医薬品インタビューフォーム（リウマトレックスカプセル 2 mg（ファイザー株式会社））
			急性毒性	マウス	経口:LD50 = 146 mg/kg 腹腔内:LD50 = 85～103 mg/kg 静脈内:LD50 = 65～70 mg/kg			同上
			急性毒性	ラット	経口:LD50 = 135～225 mg/kg 腹腔内:LD50 = 6～25 mg/kg			同上
			1か月、静脈内 0.02～2.5 mg/kg	雌雄ラット	死亡出現量 = 0.5 mg/kg/日 死亡日 = 7～20日目 一般症状:粗毛、軟便、下腹部の汚れ、活動性の低下、可視粘膜・皮膚の蒼白化等 組織学的検査:死亡例に胃及び腸粘膜の萎縮及び変性、胸腺、脾、腸間膜リンパ節のリンパ組織の退縮、骨髄実質細胞の減少、肝細胞の萎縮、肝、脾、及び投与部位(尾)の菌塊の存在と尾静脈周囲の出血 生存例:0.1 mg/kg/日以上で、骨髄実質細胞の減少及びリンパ組織の退縮など			同上
			15日間(12時間毎)、腹腔内 0.063～0.631 mg/kg/日	雌ラット	LD50 = 0.217 mg/kg 死亡出現: 0.159 mg/kg/日(死亡日 = 7-25日) 投与間隔を短くすると、低用量で死亡の出現 一般症状:粗毛、軟便、下腹部の汚れ、活動性の低下、可視粘膜・皮膚の蒼白化等 組織学的検査: 死亡例:胃及び腸粘膜の萎縮及び変性、胸腺、脾、腸間膜リンパ節のリンパ組織の退縮、骨髄実質細胞の減少、肝細胞の萎縮、肝、脾、及び投与部位(尾)の菌塊の存在と尾静脈周囲の出血が 生存例:0.1 mg/kg/日以上、骨髄実質細胞の減少及びリンパ組織の退縮など			同上
			28日間、経口 0.06, 0.2, 0.6 mg/kg	雄ラット(片側腎摘出ラット)	死亡・顔死動物数は腎摘ラットで高く、一般状態の異常は腎摘ラットで先行して発現	腎摘ラット <0.06 mg/kg/日 偽手術ラット 0.06 mg/kg/日		同上
			3か月、経口 0.05、0.1、0.2、0.4、1 mg/kg	ラット	0.4 mg/kg/日以上: 肝の中心静脈出血、小葉中心部浮腫、肝細胞索萎縮、脾の細胞のヘモジデリン沈着、腎の糸球体萎縮	0.2		同上
			12時間 間隔3回/週×26週間 回復4週間、経口 0.04、0.12、0.36 mg/kg/回	イヌ	0.04 mg/kg以上: 水様便、粘液便及びゲル状便等の消化管毒性症状、血清中トランスアミナーゼ活性の高値 0.12mg/kg以上:赤血球パラメータの低値 0.36mg/kg:消化管障害が原因とみられる死亡(1/6)、骨髄及びリンパ抑制(病理組織学検査)	<0.04mg/kg/回		同上
			胎児単回投与試験 妊娠10日、腹腔内、 0.3、0.5、0.7、2.5、5、10、25、50 mg/kg	雌マウス	10 mg/kg/日以上: 死亡胎児増加 25 mg/kg/日以上: 欠指症及び口蓋裂の増加	5		医薬品インタビューフォーム（リウマトレックスカプセル 2 mg（ファイザー株式会社）） Skalko, R. G. et al.: Teratology 9(2): 159-163, 1974
			優性致死試験 交配前5日間、腹腔内 0.1 mg/kg	雄マウス	特異的な優性致死誘導や、着床受精期減少なし 精子形成期に及ぼす影響なし			医薬品インタビューフォーム（リウマトレックスカプセル 2 mg（ファイザー株式会社））

(8) ペンシジルペニシリン

Compound	Category	Indication	Treatment days, route, dosage,	Species	Results	NOAEL LOAEL (mg/kg/day)	memo	参考文献
ペンシジルペニシリン	N	抗菌薬			高齢者にPenG2 gを30分点滴後、血中最高濃度 (Cmax) は約120 µg/mL、4 gを1時間点滴すると約212 µg/mL。体内分布は血漿や組織に広がるが、血液脳関門を通過能は低い。 主に腎臓から排泄され、腎クリアランスが低下すると血中半減期 (T1/2) が延長する。			柴孝也; 日本化学療法学会雑誌 (2003)
					血中動態: 健康成人 (n=24) にペニシリンGナトリウム40万単位/回を筋肉内単回投与した場合、血中濃度のピークは15分後にあり、その平均値は5.73単位/mLを示し、以後漸減し、3時間後には0.25単位/mLを認めた。			医薬品インタビューフォーム (注射用ペニシリンGカリウム20万単位/注射用ペニシリンGカリウム100万単位(Meiji Seika ファルマ株式会社)) Holland. SM et al., Antibiot. Chemother. 1960
			副次的薬理	ex vivo	摘出臓器 (心臓、腸管、血管)及び血管透過性、血圧及び呼吸に対して、低・中等量では認むべき影響を与えないが、大量では摘出ガマ心臓運動の抑制、摘出家兎及びモルモット腸管運動の抑制、血管拡張、血管透過性の亢進ならびに呼吸の軽度促迫、血圧の下降を認めた。			同上
			安全性薬理 大腸内	ウサギ	無麻酔家兎、血圧は一過性に下降後、または、下降なくして上昇し、同時に呼吸の促迫、被刺激性の増大、引き続く間代性痙攣 最小有効量 = 0.5mg/kg			同上
			安全性薬理 脳内	マウス	不安状態や被刺激性の増大、間代性痙攣 (一部回復、多くは死に至る) CD50 = 1.429 mg/kg、 LD50 = 3.0 mg/kg			同上

(9) サッカリン

Compound	Category	Indication	Treatment days, route, dosage,	Species	Results	NOAEL LOAEL (mg/kg/day)	memo	参考文献
サッカリン	N	甘味料 食品添加物			体内動態データなし。体内で代謝されない。 pKa=2.2、はい胃酸(pH 1.0~2.5)中では容易に吸収。 胃酸動態種(ラット、pH 4.2、モルモット)は1.4、ウサギ、 pH 1.9)、pHの高い腸では、サッカリンの吸収は遅い、そ の後、尿中に主に排泄。 影響移行あり。 女性にサッカリン(塩の形態不明)を100-300 mg/3日経 口投与したところ、血漿中濃度は0.5~1時間後に最高と なり、半減期は7.5時間であった。男性に500 mgの14C- サッカリンを投与した結果、98%以上が48時間以内に未 変化体として排泄された(尿中92.3%、糞中5.8%)。			サッカリン評価書(食品安全委員会)
					遺伝毒性試験(Ames、小核、UDS、コメットアッセイ、突 然変異他)			EFSA (2024)Annex B Najam et al., 2017, Fowler et al., 2012, Jeffrey and Williams, 2000 Hong et al., 2018 他
			単回、経口	ラット(Wistar系)	LD50 = 14,200 mg/kg			食品添加物評価書(2011) JECFA (1982)
			単回、経口	ラット (Mongrel系)	LD50 = 17,000 mg/kg			同上
			単回、経口	マウス	LD50 = 17,500 mg/kg			同上
			28日間、飲水(サッカリンNa) 1. 1900 mg/kg/day 2. 2500 mg/kg/day	マウス (C57BL/6J)	血清トリグリセリドに影響なし 体脂肪量、体脂肪率に一貫した効果なし 最終体重への影響なし 空腹時血糖値への影響なし	2500		EFSA (2024)Annex B Glendinning et al., 2020
			4.7,8週間、混餌 3,600, 6,000, 9,000 mg/kg/日 (4週間) 2,700, 4,500, 6,750 mg/kg/日 (7, 8週間)	♂ラット(F344)	2700 mg/kg体重/日以上: 血液学的悪影響なし 2700 mg/kg体重/日以上: 幼若ラットで尿蛋白尿 3600 mg/kg体重/日以上: 便潜血、死亡	2700		EFSA (2024)Annex B Okamura et al., 1994
			10週間、混餌、サッカリンNa 6750 mg/kg	♂ラット(F344)	摂餌量への影響なし 尿蛋白尿、軽度な膀胱尿路上皮再発形成 膀胱癌発生(一生経過後) 10%の体重減少			EFSA (2024)Annex B Cohen et al., 1996
			17週間、混餌、サッカリンNa 270 mg/kg	♂ラット(Wistar)	(サッカリンナトリウムまたはスクロースを添加した飼料を 与えたラット間で、安静時の長期エネルギー消費量、体 重増加およびカロリー摂取量への影響を比較。EFSA (2024) では、スクロースを添加していない対照群がない 場合、このような研究結果の解釈は困難であると報告)			EFSA (2024)Annex B Pinto et al., 2017
			12週間、飲水、サッカリン 144 mg/kg	♂マウス(ICR)	空腹時血糖の上昇、軽度な体重増加(<10%) 血清コレステロール、LDL 値: 影響なし 血清HDL 値の有意な減少(<25%)			EFSA (2024)Annex B Shi et al., 2019
			8週間、混餌、サッカリンNa 4500 mg/kg	ラット(NBR-F344)	最終体重15%減少 一般状態変化あり			EFSA (2024)Annex B Uwagawa et al., 1994
			11週間、飲水、サッカリン 15 mg/kg	♂マウス (C57BL/6)	血清コレステロール、トリグリセリド、LDL 値: 影響なし 血清HDL 値: 有意に減少(-25%) 肝臓中サイトカインの影響なし 肝臓病理組織学的変化なし 酸化ストレスのマーカーを含む、肝臓以外のエンドポイ ントに変化はみられなかった サッカリンは血清及び尿中クレアチニン濃度に影響を与 えなかった。 空腹時血糖に影響なし 軽度な体重増加(<10%)			EFSA (2024)Annex B Shi et al., 2021
			15週間、混餌、サッカリンNa 360 mg/kg	ラット(SD)	空腹時血糖値、最終体重への影響なし 体脂肪量、体脂肪率に一貫した効果なし 血中インスリンやインスリン感受性に対する影響なし 軽度な体重増加(<10%)。			EFSA (2024)Annex B Bookes et al., 2016
			7週間、混餌、サッカリンNa、 360 mg/kg	ラット(SD)	同上			EFSA (2024)Annex B Bookes et al., 2016
			14週間、混餌、サッカリンNa、 270 mg/kg	雄ラット(Wistar)	空腹時血糖値への影響なし 血中インスリン、インスリン感受性に対する影響なし			EFSA (2024)Annex B Foletto et al., 2016
			120日間、経口、サッカリン Na、2.5, 5, 10 mg/kg	雄ラット(Wistar)	体重増加(増加率10%から25%) 血清アルブミン濃度の低下 血清及び尿中クレアチニン濃度に影響なし 尿酸濃度: 用量反応的に有意に上昇			EFSA (2024)Annex B Azceez et al., 2019
			60ヶ月、飲水、サッカリン、 45 mg/kg	雄マウス (C57BL/6J)	平均最終体重の増加(10%未満)			EFSA (2024)Annex B Bian et al., 2017
			24年間、混餌、サッカリンNa、 25 mg/kg、5日/週	サル(African green)	肝臓、腎臓、卵巣、精巣・精囊、尿管・尿道、前立腺: 病 理組織学的変化なし 血清及び尿中クレアチニン濃度: 影響なし 血前学検査: 影響なし。			EFSA (2024)Annex B Takayama et al., 1998
			一世代繁殖毒性試験、混餌、 サッカリンNa、 F0 Bioassay (4ヶ月): 900, 2,700, 3,600, 4,500, 5,625, 6,750 mg/kg/日 F1 Bioassay (29ヶ月): 500, 1,500, 2,000, 2,500, 3,125, 3,750 mg/kg/日 F1 phase (妊娠期間のみ): 6,000 mg/kg/日 F1 phase (29ヶ月): 2,500 mg/kg/日	ラット(CD)	浸透圧性下痢に起因した体重減少(900 mg/kg以上、高 用量群10%以上減少)。 便潜血や死亡(3,600 mg/kg以上) 腎臓重量に影響なし 膀胱尿路上皮再発形成(高用量群雄、軽度) 親動物: 2,700 mg/kg以上群: 産児数減少 膀胱重量と腫瘍が増加 F1雄: 500~900 mg/kg群: 腎臓ミネラル化(硬質化)	—	HOC「一般毒性」のエビデンス群の 信頼度を最終的に「高」と評価し、 有害影響を特定したことを考慮する と、パネルは、サッカリン(E954)へ のばく露が、一般毒性作用、すなわ ち体重の減少や毒性の臨床徴候の 増加に関連するというエビデンス群 の信頼度は高いと考えた。	EFSA (2024)Annex B Schoenig et al., 1985
			一世代繁殖毒性試験、混餌、 サッカリンNa、 4500, 6750 mg/kg/日	ラット(F344)	便潜血、死亡(用量依存的に増加) 肝臓、腎臓重量および病理変化なし 酸化ストレスのマーカーを含む肝臓以外のエンドポイント に変化なし 血清及び尿中クレアチニン濃度に影響なし 適応性変化による盲腸肥大(6750 mg/kg) 親動物: 産児数減少傾向(6750 mg/kg) 児動物: 発育遅延、生後30日までに死亡又は瀕死状態 (6750 mg/kg)	—		EFSA (2024)Annex B Schoenig et al., 1985
			一世代繁殖毒性試験、混餌、 サッカリンNa、サッカリン酸 2500~4050 mg/kg/日	ラット(SD/F344)	4050 mg/kg群: 発育遅延、生後30日までに全例死亡 又は瀕死の状態になり、投与分 2500 mg/kg群: 産児数影響なし	2500		EFSA (2024)Annex B Cohen, Cano, et al., 1995
			生殖発生毒性試験、飲水、 サッカリンNa、 140, 730 mg/kg/日	ラット(SD)	性成熟: 影響なし 最終体重: 軽度な増加(10%未満) 発情周期異常 血清プロゲステロン濃度増加 卵巣重量及び黄体数増加 プロゲステロン合成に関連するStar及び3 β -HSD、なら びにステロイド生成関連因子(SAR, CYP11A1, 3 β - HSD, CYP17A1)の発現増加	—		EFSA (2024)Annex B Juang et al., 2018

国立医薬品食品衛生研究所長 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 齋藤 嘉朗

次の職員の令和7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 発生毒性リスク評価に資するシグナル伝達かく乱作用を基にした NAMs の開発
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・室長
(氏名・フリガナ) 大久保 佑亮・オオクボ ユウスケ

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) 未審査に場合は、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。

国立医薬品食品衛生研究所長 殿

機関名 国立大学法人横浜国立大学
所属研究機関長 職 名 学長
氏 名 梅原 出

次の職員の令和7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 発生毒性リスク評価に資するシグナル伝達かく乱作用を基にした NAMs の開発
3. 研究者名 (所属部署・職名) 先端科学高等研究院 教授
(氏名・フリガナ) 福田 淳二 (フクダ ジュンジ)

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) 未審査に場合は、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。

国立医薬品食品衛生研究所長 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7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 厚生労働科学研究費補助金 化学物質リスク研究事業
2. 研究課題名 発生毒性リスク評価に資するシグナル伝達かく乱作用を基にしたNAMsの開発
3. 研究者名 (所属部局・職名) 帝京平成大学・健康医療スポーツ学部医療スポーツ学科・教授
- (氏名・フリガナ) 桑形 麻樹子・クワガタ マキコ

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) 未審査に場合は、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。

国立医薬品食品衛生研究所長 殿

機関名 国立研究開発法人産業技術総合研究所

所属研究機関長 職 名 理事長

氏 名 石村 和彦

次の職員の令和 7 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 発生毒性リスク評価に資するシグナル伝達かく乱作用を基にした NAMs の開発
3. 研究者名 (所属部署・職名) 健康医工学研究部門 上級主任研究員
- (氏名・フリガナ) 中島芳浩・ナカジマ ヨシヒロ

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) 未審査に場合は、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 C O I 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 C O I 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 C O I 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 C O I 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。

国立医薬品食品衛生研究所長 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 齋藤 嘉朗

次の職員の令和7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 発生毒性リスク評価に資するシグナル伝達かく乱作用を基にしたNAMsの開発
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・客員研究員
(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 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) 未審査に場合は、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。

国立医薬品食品衛生研究所長 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 齋藤 嘉朗

次の職員の令和7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 発生毒性リスク評価に資するシグナル伝達かく乱作用を基にした NAMs の開発
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) 未審査に場合は、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。