

厚生労働行政推進調査事業費補助金

化学物質リスク研究事業

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

令和 7 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 平林容子

令和 8 (2026) 年 4 月

I. 総括研究報告

- 国内外で開発されOECDで公定化されるNAMを活用した試験法の行政的な受け入れに対応するための研究----- 1
 国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター／平林 容子

II. 分担研究報告

1. 肝臓並びに腸管オルガノイドを用いた*in vitro* toxicokinetics評価系の構築
 ----- 21
 東京農業大学 応用生物科学部／美谷島 克宏
2. 発がん性試験におけるAOP、IATA及びTGの開発、及び実験データ支援 --- 35
 国立医薬品食品衛生研究所 病理部／豊田 武士
3. *In vitro*腎毒性評価のTG開発及び実験データ支援----- 41
 国立医薬品食品衛生研究所 病理部／松下 幸平
4. 化学物質曝露によって誘発される発達神経毒性に関する研究----- 47
 国立医薬品食品衛生研究所 毒性部／齊藤 洋克
5. 皮膚感作性*in silico*機械学習モデルのTG 開発----- 52
 名古屋市立大学データサイエンス研究科／安部 賀央里
6. バリデーション基準の改定対応および皮膚感作性試験のTG開発 ----- 57
 国立医薬品食品衛生研究所 ゲノム安全科学部／足利 太可雄
7. Bhas42細胞形質転換試験法のTG開発----- 62
 神奈川県衛生研究所 理化学部／大森 清美
8. *In vitro* toxicokineticsのDRP開発----- 64
 国立医薬品食品衛生研究所 薬理部／山崎 大樹
9. OECD ESCAプロジェクト対応 ----- 72
 国立医薬品食品衛生研究所 毒性部／西村 拓也
10. Bhas42細胞形質転換試験法のTG化、及び、NGTxC・IATAガイダンス文書
 作成支援 ----- 76
 星薬科大学 毒性学研究室／小川 久美子
11. OECD ESCA プロジェクト対応 ----- 79
 帝京平成大学 健康医療スポーツ学部／中江 大
12. 免疫毒性のIATAおよび*in vitro* toxicokineticsのDRP開発----- 85
 山陽小野田市立山口東京理科大学 工学部医薬工学科／小島 肇

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	92
IV. 倫理審査等報告書の写し	95

別添 3

厚生労働行政推進調査事業費補助金（化学物質リスク研究事業）

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

令和 7 年度総括研究報告書

研究代表者 平林 容子

国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター長

研究要旨

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

本研究班は、このような世界的な動向に呼応して NAM の開発を加速し、新興技術に基づく評価法を公定化させるとともに、他国が提案する有害性発現経路（AOP）や試験の実施と評価のための戦略的統合方式（IATA）を開発する OECD 大型プロジェクトに関与する。また、AOP、TG 及び IATA 開発に必要な実験データを求める。得られた成果を化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）や毒物及び劇物取締法（毒劇法）などの我が国の厚生労働行政に反映させることを目的とする。

本年度、これまで日本で開発された皮膚感作性試験代替法 EpiSensA, ADRA 及び IL-8 Luc assay が GL497（Defined Approach Skin Sensitization）に、免疫毒性試験 IL-2 Luc LTT が TG444A にそれぞれ追加収載された。さらに眼腐食性及び強度刺激性物質を同定するためのウシ角膜を用いる混濁度及び透過性試験（TG437）に病理標本の利用に関する記載が追記され、9月までに OECD のホームページで公開された。

これらの得られた成果が、化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）や毒物及び劇物取締法（毒劇法）などの我が国の厚生労働行政に反映されることを期待している。

研究分担者

美谷島 克宏

東京農業大学 応用生物科学部
食品安全健康学科 教授

豊田 武士

国立医薬品食品衛生研究所
安全性生物試験研究センター
病理部 部長

松下 幸平

国立医薬品食品衛生研究所
安全性生物試験研究センター
病理部 第三室長

齊藤 洋克

国立医薬品食品衛生研究所
安全性生物試験研究センター
毒性部 主任研究官

安部 賀央里

名古屋市立大学
データサイエンス学部 准教授

足利 太可雄

国立医薬品食品衛生研究所
安全性生物試験研究センター
ゲノム安全科学部 第四室長

大森 清美

神奈川県衛生研究所
理化学部 主任研究員

山崎 大樹

国立医薬品食品衛生研究所
安全性生物試験研究センター
薬理部 第二室長

西村 拓也

国立医薬品食品衛生研究所
安全性生物試験研究センター
毒性部 第三室長

小川 久美子

星薬科大学
薬学部毒性学研究室 教授

中江 大

帝京平成大学 健康医療スポーツ学部
医療スポーツ学科動物医療コース
教授

小島 肇

山陽小野田市立山口東京理科大学
工学部医薬工学科 教授

A. 研究目的

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

本研究班は、このような世界的な動向に呼応して NAM の開発を加速し、新興技術に基づく評価法を公定化させるとともに、また、他国が提案する有害性発現経路 (AOP) や試験の実施と評価のための統合的アプローチ (IATA) を開発する OECD 大型プロジェクトに関与する。また、AOP、TG 及び IATA を開発するための実験データを求める。得られた成果のうち妥当なものを化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律 (化審法) や毒物及び劇物取締法 (毒劇法) などの我が

国の厚生労働行政に反映させることを目的とする。

B. 研究方法

B-1. TG、DRP 及び IATA 等の開発

B-1-1. 皮膚感作性試験代替法の開発

- 1) 平林、研究分担者の足利及び小島は、これまで日本で開発された皮膚感作性試験代替法 EpiSensA, ADRA 及び IL-8 Luc assay がガイドライン (GL) 497 (Defined Approach Skin Sensitization) に追加収載されるよう尽力した。また、GL497 への *in silico* モデルの追加収載に関する WNT の議論に参加した。
- 2) 研究分担者の足利及び小島は、研究協力者の赤堀有実 (CERI)、小野敦 (岡山大学) 及び大野 (国立衛研) らとともに、TG442D に追加することを目指し、皮膚感作性試験代替法 α -SENS のバリデーション報告書、peer review 報告書及び TG 案を作成した。
- 3) 研究分担者の足利及び小島は、研究協力者の立花滋博 (食品薬品安全センター) らとともに、新規表皮モデルを用いた Epi2SensA を TG442D に追加することを目指し、フランスが主導するバリデーション報告書、peer review 報告書及び TG 案の作成に協力した。
バリデーションに参加した食品薬品安全センターは、日程の関係で施設間再現性試験に参加し、施設内再現性試験には参加できなかった。そこで、バリデーション終了後となってしまったが、施設内及び施設間再現性が悪かった物質について追試験を実施した。
- 4) 研究分担者足利及び小島は、研究協力者の里田裕紀 (花王) らとともに、EpiSensA と *in silico* の組み合わせを

GL497に追記するため、OECD 専門家会議において議論した。また、笠原利彦 (富士フイルム) らとともに、日本で開発された *in silico* 予測モデルの開発や組み込んだ場合の予測率の計算を行い、新規提案書 (Standard Project Submission Form :SPSF)を作成した。

- 5) これまでに、分担研究者の安部及び足利が開発した、皮膚感作性の強度指標であるマウスの LLNA EC3 値の定量的な予測モデル (Ambe et al., Regul Toxicol Pharmacol 125:105019(2021)) を改良し、適用領域の設定や外部検証を実施した。SHapley Additive exPlanations (SHAP) によるモデルの解釈性・説明性を検討し、本モデルについて国際英文誌への投稿と QSAR Model Reporting Format (QMRF)作成を開始した。また、さらなる予測モデルの性能向上や精緻化を目指し、SARA-ICE モデルの学習データを追加し、モデルの改良を開始した。

B-1-2. 免疫毒性試験代替法の開発

平林、研究分担者の小島は研究協力者の相場節也 (元東北大学) とともに、免疫毒性試験 IL-2 Luc LTT の TG 採択を目指した。

また、免疫毒性試験 IL-2 Luc LTT に用いる 2H4 細胞の安定供給について、供給先の Tottori Bio と議論した。

さらに、免疫毒性試験の IATA 開発について検討した。

B-1-3. 腎毒性試験代替法 (*in vitro* 腎毒性試験法) の開発

平林、研究分担者の松下及び足利、小島は、協力研究者の荒川大（金沢大学）とともに日機総が市販しているヒト腎細胞 3D-RPTEC(R) を *in vitro* 腎毒性評価法の TG とするための手始めとして、Detailed Review Paper (DRP)開発に関する SPSF を作成した。

B-1-4. 初回通過効果試験代替法 (*in vitro* toxicokinetics) の開発

研究分担者の山崎及び小島は、研究協力者の石田誠一（崇城大学）とともに作成した *in vitro* toxicokinetics に関する DRP 開発の SPSF が OECD にて承認されたため、DRP 開発のための海外専門家メンバーのリクルートを MPS ワールドサミット（6 月ベルギー）、WC13（8 月ブラジル）にて行った。なお、DRP 開発に先んじて元となる Review paper の作成を進めた。一般化合物及び及び農薬合わせて 30 物質程度について、ヒトでの小腸透過、代謝の情報がある化合物の選定を進めた。

B-1-5. NGTxC・IATA 及び Bhas 42 assay の開発

OECD では、非遺伝毒性発がん (NGTxC)・IATA の開発が 2016 年から行われている。NGTxC・IATA では作用機構 (MoA) の議論に基づき IATA 構築の方針が国際合意され、2020 年は Expert working group (EG) としてレビュー論文を公表している。

研究分担者の大森、豊田及び小川は、この活動に参画した。NGTxC・IATA 開発のワーキンググループによる web 会議に参加した。NGTxC・IATA のレビューに従い、発がんモデルと AOP にもとづく免疫修飾、細胞増殖、ギャップジャンク

ションなどの 13 の Key event に対応する 13 の Assay block を立ち上げた。各 Block は定量的に評価可能な Assay を選出し、それらの詳細な情報を取りまとめ Assay description を作成及び評価を行った。

発がん性試験代替法 Bhas 42 cell transformation assay (Bhas 42 CTA) に関しては、TG 採択に向け、EG と議論した。

B-1-6. 眼刺激性試験代替法の開発

研究分担者の小島は、日本主導で進めてきた眼腐食性及び強度刺激性物質を 同定するためのウシ角膜を用いる 混濁度及び透過性試験法 (TG437) に病理標本の利用を追記した改定案の作成に務めた。

B-1-7. GD34 の改定

研究分担者の足利は、OECD で進むバリデーション基準に関するガイダンス (GD34) の改定について OECD で開催されたプロジェクトグループ会議に出席し、提案された部分的なドラフト文章及び付属資料について意見交換を行った。

B-2. AOP、TG 及び IATA の実験データ支援

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

研究分担者の美谷島は、研究協力者の煙山紀子とともに、腸肝循環を模倣し動物による人体模倣システム (MPS) 構築のため、肝臓における検討として、初年度は、マウス肝オルガノイド培養の基礎データ取得に加え、生体マウス及びマウス由来初代肝細胞での化学物質曝露時の CYP 誘導、添加した化学物質の代謝変化や、毒性学的影響を評価した。

肝臓に関する検討として、マウス初代肝細胞は、CD1 マウス由来を用いた。肝細胞はコラーゲンコート 24 ウェルプレートに、 0.2×10^6 個を播種した。薬剤の代謝能及び LC-MS/MS による測定系を予備的に確認するため、播種 6、24、48、72 及び 96 時間後に、Phenacetin 50 $\mu\text{mol/L}$, Diclofenac 5 $\mu\text{mol/L}$, Mephenytoin 50 $\mu\text{mol/L}$, Bufuralol 10 $\mu\text{mol/L}$, Midazolam 5 $\mu\text{mol/L}$ となるように混合したカクテル、または Midazolam 5 $\mu\text{mol/L}$ を単独で処置し、2 時間後にメディウム及び細胞を回収した。また、肝細胞の播種 24 時間後に、同様の薬剤カクテル及び Midazolam 単独曝露を行い、その 1、4、24 及び 48 時間後にメディウムを回収した。LC-MS/MS による測定のため、前処置としてメディウムの 2 倍量のアセトニトリルを加えて攪拌・遠心後に上清を回収した。曝露した肝細胞から RNA 抽出を行い、CYP の誘導について解析する予定である。また、時間経過に伴い、肝細胞の形態が円形から紡錘形へと変化することが確認された。これより、今後は初代培養への曝露における至適条件の検討が必須であると考えられた。さらに、曝露前後の化合物、代謝物を解析するため培養上清が採取されたので、実際に LC-MS/MS による測定結果を取得する予定である。

小腸に関する検討として、*in vitro* 消化管由来組織の吸収に関する基礎データを収集する目的で、Caco-2 細胞を用いた細胞毒性・透過性確認試験を実施した。肝臓の取り組みと同様に被験物質として薬剤カクテル及び Midazolam 単独曝露を行い、曝露後、細胞生存率測定、遺伝子発現解析を行った。オルガノイド作製は、C57BL/6J マウスの腸管上皮オルガノイド

(STEMCELL 社) を購入し、IntestiCultTM M Organoid Growth Medium (Mouse) を用いて STEMCELL 社の養プロトコルに従いマトリゲルドームを形成し、小腸オルガノイド組織を作製した。それに引き続き、MPS デバイスに搭載し被験物質を曝露するためマトリゲルドーム培養下の腸管オルガノイドからの平面培養化について手技的に安定化させ、さらに平面培養において薬物動態評価の指標として TEER 値を測定し、上皮細胞単層のタイトジャンクションの健全性やバリア機能の評価に着手した。肝臓の検討と同様に、被験物質として薬剤カクテル及び Midazolam 単独曝露を行なった。肝細胞の検討と同様に、被験物質の腸管上皮通過前、通過後の化合物濃度を解析するため、培養上清が採取されたので、実際に LC-MS/MS による測定結果を取得する予定である。

B-2-2. 腎臓がん物質早期検出法の開発

研究分担者の豊田は、 γ -H2AX 免疫染色による腎臓がん物質早期検出法の開発に取り組んでいる。令和 7 年度は、本手法による腎臓がん性の評価と腎臓における病理組織学的所見の関係を検証するため、これまでに評価した 47 物質（腎臓がん物質 26 種を含む）を投与したラット腎臓の病理組織学的解析を実施した。6 週齢、雄の F344 または SD 系ラットに被験物質を 28 日間反復経口投与した。各被験物質の投与濃度には、原則として短期試験における最大耐量を用いた。投与終了後に腎臓を採材、ホルマリン固定パラフィン包埋標本作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施して鏡検した。

B-2-3. 腎障害・腎線維化の AOP 作製に資するデータ

研究分担者の松下は、腎障害・腎線維化の AOP 作製に資するデータを得るため、腎毒性物質であるアドリアマイシンによる腎線維化モデルの作製条件を検討した。

実験①：6 週齢の雄性 SD ラットを 5 群に配し（n=5）、媒体である生理食塩水もしくはアドリアマイシンを 4、6、8 及び 10 mg/kg 体重（10mL/kg 体重）の用量で単回静脈内投与した。投与 28 日後にイソフルラン深麻酔下において腹大動脈から採血した後、放血により安楽死させて剖検を行った。剖検時に腎臓を摘出して重量を測定した後、一部を 10%中性緩衝ホルマリンにて固定した。得られた血液サンプルを常温下で遠心（3000 rpm、15 分）して血清を分離し、尿素窒素（BUN）及びクレアチニン（sCre）の値を測定した。また、10%中性緩衝ホルマリンで固定した腎臓組織を用いて定法に従いパラフィン包埋、薄切し、HE 染色を施して病理組織学的検索を行った。

実験②：6 週齢の雄性 SD ラットを 5 群に配し（n=5）、媒体である生理食塩水もしくはアドリアマイシンを 2、4、6 及び 8 mg/kg 体重（10mL/kg 体重）の用量で試験開始時及び試験開始 2 週間後の 2 回、静脈内投与した。2 回目の投与から 4 週間後に実験①と同様に剖検及び解析を実施した。

統計学的解析として、体重、血液生化学的検査及び腎重量のデータについて一元配置分散分析（ANOVA）を実施した後、Dunnett 法による多重検定を行った。有意水準は 0.05 に設定した。

B-2-4. 化学物質曝露によって誘発される発達神経毒性に関する研究

研究分担者の斎藤は、化学物質曝露によって誘発される発達神経毒性に関する研究として、発生-発達期のマウスに作用機序の異なる被験物質を投与し、脳高次機能への影響として生じる共通のイベント、あるいはその影響の差異を検討した。今年度は、予備検討での実験条件をふまえ、イミダクロプリド、アセフェート、フィプロニルの作用機序の異なる 3 種類の被験物質を選択し、幼若期（2 週齢）及び成熟期（10 週齢）の C57BL/6N マウスに単回強制経口投与を行った。被験物質の投与後、12～14 週齢時に個体の行動に及ぼす影響を検出するため、自発運動量、情動行動、学習記憶能、情報処理機能に着目し、オープンフィールド試験、明暗往来試験、条件付け学習記憶試験、プレパルス驚愕反応抑制試験を組み合わせた行動試験を行った。

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

B-3-1. WNT 対応

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

平林は WNT 会議（2025 年 4 月 1～4 日）に現地で参加し、東野審査官（厚生労働省）、小島等は web で参加した。

B-3-2. ESCA 対応

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

平林、研究分担者の中江、西村及び研究協力者の永堀（日化協）は、OECD ESCA の Advisory Group 会議（2025 年 3 月 31 日・4 月 1 日開催）及び新規プロジェクト提案に関する web 会議（2025 年 12 月 10 日）に出席し、また、当該新規プロジェクト計画書に関するレビューを行い、NAM に関して、公定化をすすめる仕組みや他国が提案するプロジェクトに関しての情報収集を行った。

B-3-3. その他学会

中江は以下の学会シンポジウムの座長を務めると共に情報を収集した。

1. 日本動物実験代替法学会第 38 回大会
（2025 年 11 月 2 日、パシフィコ横浜
ノース、横浜市）

（倫理面への配慮）

動物実験は国立医薬品食品衛生研究所が定める「動物実験の適正な実施に関する規程」に基づいた審査・承認を得た上で、使用する動物数ならびに動物が受ける苦痛を最小限とするよう配慮して実施した。

C. 研究結果

C-1. TG、DRP 及び IATA 等の開発

C-1-1. 皮膚感作性試験代替法の開発

- 1) 2025 年の WNT 会議にて、EpiSensA、ADRA 及び IL-8 Luc assay が GL497 (DASS) に追加収載されることが決

まり、6月にOECDにて公開された。
なお、新たな*in silico*モデルのGL497への収載はWNTにて議論が継続中である。

- 2) 新規皮膚感作性試験代替法 α -SENS のバリデーション報告書、peer review 報告書及び TG 案を 11 月に OECD へ提出した。バリデーション結果は計画通りであり、TG 成立に支障となる問題点は見つかっていない。
- 3) 新規表皮モデル EpiDerm を用いた Epi2SensA のバリデーション報告書、peer review 報告書及び TG 案を OECD へ 11 月に提出した。バリデーションの結果、EpiSensA の予測モデルでは再現性に欠けた。Epi2SensA の結果に合わせて陽性の判断基準を変更し、細胞生存率 (60% : EpiSensA は 80%)、4 遺伝子の内、2 遺伝子が基準を超えた場合を陽性 (EpiSensA は 1 遺伝子) とした場合、バリデーションの受け入れ基準を満たした。

食品薬品センターにおける追加検討に関しては、施設内再現性及び施設間再現性が悪かった 6 物質を用いて評価中である。

- 4) 花王が提案した EpiSensA と市販の *in silico* の組み合わせモデルに関しては、従来の 2 つの *in vitro* 試験（タンパク結合性と樹状細胞活性化）から、1 つの *in vitro* 試験（角化細胞活性化）のみになったことから、専門家間で懸念が生じおり、現在は追加検証を行っている。

富士フイルムが提案した *in silico* モデルに関しては、11 月に SPSF を提出した。採択の可否は 2026 年の WNT で決まる。

5) 皮膚感作性のGHS区分（1A,1B）を判定する機械学習モデルを構築した。モデル構築及び内部検証用データとして皮膚感作性の組み合わせ評価のためのガイドライン（DASS、GL497）に記載されているリストから154物質、外部検証用データとしてCosmetics Europaにより公開された文献（Hoffmann, 2022）から72物質の局所リンパ節試験（LLNA）結果情報を使用した。判定に必要なモデル入力値は、皮膚感作性の発症メカニズムに対応する3種類の*in chemico*及び*in vitro*試験結果（DPRA、KeratinSensTM、h-CLAT）、OECD QSAR ToolBoxやOPERAから算出した分子記述子、構造アラート情報を含む21個とした。3種類の試験が2つ以上陽性と判断された物質については、決定木系アルゴリズムであるXGBoostによりLLNA EC3値を算出し、予測値が2%以下であればGHS 1A、予測値が2%より大きければGHS 1Bと判定される。一方で、2試験以上が陰性と判断された物質は皮膚感作性陰性とした。3種類の試験が2つ以上陽性と判断された81物質のGHS区分の一致率は79.0%、過大評価は13.6%、過小評価は7.4%であった。また、試験が2つ以上陰性と判断された58物質については、LLNAの試験結果との一致率が51.7%であった。

また、DASS GL497に記載されたSARA-ICEモデルに使用されている物質の中で、本モデルの学習データに追加可能な物質は48個であった。学習データを追加した予測モデルでは、追加前のモデルと比較して、内部検証の結果は大きな改善は見られなかったが、

外部検証では過小評価が改善された。予測モデルの学習データの追加については、予測性能の安定を目指しパラメータ調整やデータ分布の確認を進めている。

C-1-2. 免疫毒性試験代替法の開発

本年4月に開催されたOECD WNT会議において、免疫毒性試験IL-2 Luc LTTがTG444Aに追記され、9月に公開された。

一方、WNT会議にて免疫毒性のIATA開発を提案したが、IATA事例報告を作成するよう指示された。ただし、IL-2 Luc LTTがTG444Aに追記されたことにより、IL-2 Luc assayと組み合わせる方法が白紙となった。IATA事例報告を作成するため、IL-1 Luc assayなどの他の作用機構を持ち、再現性が確保されている試験法を探している。

C-1-3. 腎毒性試験代替法の開発

腎毒性試験代替法であるヒト腎細胞3D-RPTEC(R)のTGを目指し、DRPのSPSFを11月OECDに提出した。採択の可否は2026年のWNTで決まる。

C-1-4. 初回通過効果試験代替法の開発

2024年10月、SPSF「Detailed Review Paper for *in vitro* toxicokinetics」を作成し、厚生労働省を通じてOECDへ提出した。その結果、OECD WNTにて承認された（Project 4.188）。

DRPに先んじて、DRPの元となるReview paperを作成する方針となり、まずは国内メンバーにて作成を進めている。投稿は2026年3月を予定している。

将来的にテストガイドライン作成する際には、対象物質の選定が必須となる。

そこで、一般化学物質及び農薬合わせて30程度について、ヒトでの小腸透過及び代謝の情報を有する化合物について、選定を行った。選定化合物は以下の通り。
一般化合物質：アクリルアミド、フェノール、アニリン、ベンジジン、ベンゾ[a]ピレン、ヘキサクロロベンゼン、ペンタクロロフェノール、エチレングリコール、ジメチルスルホキシド、1-メチル-2-ピロリドン NMP、トリス(1-クロロ-2-プロピル)ホファート、N,N-ジメチル-m-トルアミド(DEET)、トリクロロ酢酸、4-ニトロフェノール、臭素酸カリウム。農薬：イミダクロプリド、フィプロニル、スピロピジオン、オキサゾスルフィル、メピコートクロリド、スピロジクロフェン、マンジプロパミンド、クロルタルジメチル、オキシリニック酸、イソシクロセラム、シクロピラニル、キノクラミン、シフルフェナミド、チアペンタゾール、クロルピリホス

C-1-5. NGTxC・IATA 及び Bhas 42 assay の開発

NGTxC・IATA 開発については、本年 web にて協議が行われ、特に免疫修飾に基づく発がん性の評価について、専門家の意見を取り入れて議論を継続することとなっている。

Bhas42CTAは2023年11月に日本から提出されたTGに関するSPSFが却下されたが、2024年にEGからの支援が決議され、EGメンバー全体で合意した改正SPSFを日本から2024年10月に提出した。2025年4月に開催されたWNT会議にて、2段階のBhas42CTA TGの作業計画が承認された。第一段階ではBhas 42 CTAのメカニズム解析に関する論文を収集・分析し、EGの支

援を受けレビューを作成する。そのレビューの承認後、TG作成に入ることになった。

Bhas 42 CTAのレビュー作成のため、メカニズム解析論文として、PFOAによる細胞形質転換過程におけるトランスクリプトーム解析を用いた詳細なメカニズム論文の国際誌への掲載を追加し、リン酸プロテオーム解析を用いたメカニズム論文も近く投稿する。その他のBhas 42 CTAにおける細胞形質転換過程でのトランスクリプトーム及びリン酸プロテオームによりデータは取得済みであるが、メカニズムの解析は今後の課題である。

C-1-6. 眼刺激性試験及び光毒性試験代替法の開発

病理標本活用と試験法の技術的な改定を追記した TG437 改定案が本年 4 月の WNT で採択され、9 月に公開された。

C-1-6. GD34改定

GD34の改定については、2025年12月4、5日にOECDで行われたプロジェクトグループ会議に出席し、特に全身毒性評価に関するNAMに対応するバリデーションのあり方について議論を行った。まず共通認識として、皮膚刺激性など従来の局所毒性の試験法のバリデーション研究よりも、柔軟で効率化されたプロセスが必要であることが再確認された。それを実現するために、従来のプレバリデーションから事前評価 (readiness criteria)へ移行することが必要とされた。事前評価のプロセスとは、あらかじめ確認事項が定められた定型フォーマットに、試験法開発者が生物学的妥当性、プロトコルの有無、再現性、予測性などに関する情報を記載

し、専門家による事前評価の成績によってバリデーションを簡素化または省略可能とするものである。柔軟で効率的なバリデーションのあり方については、参加施設数や被験物質の削減が検討されたが、効率性と厳密性を両立させることはやはり難しく、バリデーションプロセス自体に大きな変化はない見通しである。事前評価を厳格化することで、バリデーションに入る前に技術移転性確認、プロトコル改定、及び適用限界の明確化が達成されていることが確認できれば、バリデーションの大幅な効率化が実現できると考えられる一方、試験法開発者の負担が増えることも懸念された。またpeer reviewのあり方についても、開発者から報酬を受け取る独立コンサルタントによって行われる場合を想定し、開発者とpeer reviewerの独立性をどのように担保するのが議論された。またOECD自身がpeer reviewを運営し、各国のコーディネーターに専門家の指名を求める場合、専門家グループは当該バリデーション研究に関与するべきではないことが明記される見通しとなった。さらに、従来のように個別の試験法をバリデーションした後にDefined approach (DA)により統合するのではなく、まずDAを開発・バリデーションした後に個別の試験法バリデーションを経ずに当てはめる方式や、*in silico*モデルの事前評価のテンプレートも今後作成することとなった。

C-2. AOP、TG及びViATAの実験データ支援

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

マウス初代肝細胞の培養への化合物の曝露を検討するにあたり、先ず、HepG2細胞を用いて薬物代謝能の陰性対照条件における、被験物質の処理濃度及び播種条件の検討を行った。HepG2細胞に薬剤カクテル及びMidazolam単独曝露して細胞毒性を検討し、初代肝細胞培養系への曝露濃度を確定させた。さらに、HepG2細胞への曝露で（代謝がなされない条件において）、培地中の曝露物質濃度を確認するため、経時的に培養上清を採取した。それに続き、マウス初代肝細胞を用いて細胞播種条件（細胞数、壁着条件、細胞形態）を検討し、被験物質を曝露するための至適条件を見出した。肝細胞播種から、6時間から接着が確認され、96時間後までの接着が確認された。また、時間経過に伴い、肝細胞の形態が円形から紡錘形へと変化することが確認された。これを基に、被験物質の曝露を行い、曝露前ないし後の培養上清を採取した。さらに、被験物質回収後の細胞を用いて、CYP関連遺伝子の発現解析を進めている。また、HepG2及び初代肝細胞に曝露し、経時的に採取した培養上清は、LC-MS/MSによる測定結果を取得する予定である。

マウス腸管由来オルガノイドを用いた化合物を評価するにあたり、先ずCaco-2細胞培養による薬剤カクテル及びMidazolam単独曝露による細胞毒性を検討したところ、両化合物ともに顕著な細胞を示さなかった。マウス腸管オルガノイドは、マトリゲルドーム培養法により順調に増殖した。同腸管オルガノイドを一定数集積し、平面培養化させた。平面培養に対し、薬剤カクテル及びMidazolam単独の曝露による腸管バリア

機能への評価を TEER 値変動、上皮細胞間のタイトジャンクション関連タンパクの発現変動について、解析を進めている。

C-2-2. 腎発がん物質早期検出法の開発

腎発がん物質26種を含む計47物質を用いたこれまでの検討において、 γ -H2AX免疫染色により腎発がん物質を高い感度（84.6%；22/26）及び特異度（95.2%；20/21）で判定可能であることを報告した。令和7年度は、各被験物質を投与したラット腎臓の詳細な病理組織学的解析を実施し、 γ -H2AX免疫染色の結果との比較検討を行った。

47物質の投与群のうち、尿細管上皮細胞の変性/壊死が18物質で認められ、うち10物質で発生頻度の有意な増加を伴っていた。同所見は多くの腎毒性物質により様々な機序で誘発されるが、10物質すべての投与群で γ -H2AX陽性細胞の増加が認められたことから、腎発がん性との相関が示唆された。

また、再生尿細管及び間質における炎症細胞浸潤の発生頻度の有意な増加が、それぞれ12及び3物質の投与群において認められ、2物質を除きいずれも γ -H2AX形成の有意な増加を伴っていた。 γ -H2AXは再生に伴う複製ストレスや、慢性炎症で生じる酸化ストレスによっても引き起こされることが知られている。変性/壊死と同様に腎発がん性に関連する可能性がある一方、これらの所見は対照群でも一定の頻度で観察されることから、物質ごとに慎重な評価が必要と考えられた。

さらに、近位尿細管上皮細胞における好酸性顆粒の増加または巨大核の出現

（カリオメガリー）が、それぞれ7物質の投与群に認められた。細胞質における好酸性顆粒は、雄ラットに特異的な α_{2u} グロブリンと推定される。過剰な蓄積に続発する α_{2u} グロブリン腎症は腎発がんに関与することが知られており、本研究において増加を示した7物質のうち6物質で、 γ -H2AX陽性細胞の増加が認められた。 α_{2u} グロブリンはヒトには存在しないことから、外挿性を評価する上でも重要な所見と考えられた。カリオメガリーは尿細管上皮細胞の核が顕著に大型化した状態を指し、再生時のDNA複製の異常による所見と考えられている。必ずしも前がん状態を示すわけではないとされているが、本研究においてカリオメガリーを誘発した7物質はすべて γ -H2AX形成の増加を示した腎発がん物質であったことから、腎発がん性の短期評価において有用な指標になり得ると考えられた。

以上の結果から、ラット28日間反復経口投与毒性試験における腎臓の病理組織学的所見として尿細管上皮細胞の変性/壊死またはカリオメガリーが認められた場合、 γ -H2AX陽性細胞の増加を伴うことが多く、腎発がん性の評価に有用な指標となり得ることが示唆された。一方で、 γ -H2AX形成の有意な増加を示しながら、病理組織学的所見の発生頻度増加を伴わない腎発がん物質も5種類存在し、 γ -H2AX免疫染色が最も高感度な指標であることも併せて確認された。

C-2-3. 腎障害・腎線維化の AOP 作製に資するデータ

実験①：実験開始3週時において、最高用量群の10 mg/kg群において一般状態の悪化及び体重減少がみられたため、全

例を安楽殺した。その他の群は試験終了時まで生存した。血清生化学的検査では、全投与群において対照群と比較してBUN及びsCreの有意な変動は認められなかった。腎重量測定では、6及び8 mg/kg群において相対重量が対照群と比較して有意な高値を示した。病理組織学的解析では、6及び8 mg/kg群で軽度の障害性変化が認められたものの、明らかな線維化病変は認められなかった。

実験②：実験開始4週時において、最高用量群の8 mg/kg群において一般状態の悪化及び体重減少がみられたため、全例を安楽殺した。その他の群は試験終了時まで生存した。血清生化学的検査では、6 mg/kg群においてBUN及びsCreが対照群と比較して有意な高値を示した。腎重量測定では、4及び6 mg/kg群において対照群と比較して相対重量の有意な高値を認めた。病理組織学的解析では、4及び6 mg/kg群で尿細管障害が認められた。また、線維化病変は4mg/kg群では軽度に、6 mg/kg群で強く認められた。

以上より、アドリアマイシン誘発ラット腎障害・腎線維化モデルの作成条件として、6 mg/kgの2回投与が適切であると考えられた。

C-2-4. 化学物質曝露によって誘発される発達神経毒性に関する研究

行動試験の結果、イミダクロプリド幼若期投与群では、対照群と比較してオープンフィールド試験、明暗往来試験、条件付け学習記憶試験において行動変化が観察され、衝動性、不安の亢進、学習・記憶能の逸脱を示唆する所見が認められたことから、複数の行動領域に影響が及ぶ可能性が考えられた。アセフェート投

与群では、対照群と比較して明暗往来試験における不安関連行動の変化が認められた。フィプロニル幼若期投与群でも、対照群と比較して明暗往来試験における不安関連行動の変化が認められ、加えて条件付け学習記憶試験では学習・記憶指標の逸脱を示唆する所見が観察された。なお、各被験物質の幼若期投与群に共通して、明暗往来試験では明室滞在時間及び明暗往来数の減少、暗室待機時間の増加が認められ、不安関連指標として整合的な変化であった。

C-3. OECDに提出する資料の事前確認とOECDからの意見募集への対応

C-3-1. WNT対応

SPSFを提出するため、2025年9月より東野審査官及び工藤分析官（厚生労働省）、平林、小島及び協力研究者の安彦、堀にて内容を確認し、修正を経たものが、2025年11月中旬にOECDに提出された。今年各国から提出された15件のSPSFの内、日本提案は3件であった。

- # 8 Revision of TG 497: Proposal for Incorporating a Novel *in silico* Model to Predict Skin Sensitization Hazard and Potency
- # 9 Proposal to Include the *in silico* RSRKE1 as an Alternative to the *in chemico* Method in OECD TG 497
- # 12 DRP on *in vitro* renal cytotoxicity assays for future creation of new TG

このうち、#8、9に関しては、昨年度、富士フィルムから提案した SPSF: Newly Developed QSAR, Consensus Model for Predicting Skin Sensitization が

不採択になったことを受け、改定版を2つに分けて再提出したものである。

C-3-2. ESCA

本年度、ESCA会合及びweb会議での主な議論や動向については、以下のとおりである。

- オミクス及びAI手法を活用した毒性評価、特に遺伝毒性評価の近代化・高度化は重要な動向である。オミクス試料採取において凍結保存を許容するTG改訂（2025）は error-corrected next-generation sequencing（ecNSG）の規制導入に関連する動きといえる。また、オミクス手法は、様々な毒性評価への応用に向け開発段階にあるが遺伝毒性バイオマーカーに関するTG策定の提案の動きもある。
- オミクス報告フレームワーク（OORF）として、プロテオミクス、エンリッチメント解析、T-ROAMを追加した改訂版が利用可能、オミクス試料採取ガイドランスの承認、ICCS TGxToolによるOORF報告の自動化・規制レビュー効率化の推進が2025年に進められており、オミクスの規制導入の環境整備が進んでいる。一方で、エピゲノミクスが現行の枠組みからはエピゲノミクスが欠落している点、曝露タイミングや期間がオミクス解析結果に大きく影響する点、利用文脈（CoU）に応じてオミクスデータの用途を明確に位置づける必要性について議論された。
- 肝オルガノイドを用いた肝毒性評価に関するDRP作成が進行中である。
- 生殖発生毒性分野の国際的専門家ネットワークであるISTNET-DARTでは動物を使用しない規制評価ロードマップ

を公表している（Blum et al., 2025, *Critical Toxicology*）。DART関連のNAMsについても今後OECDが国際的に調整する役割を担う可能性について議論された。

- 発達神経毒性（DNT）IVTにおける参照物質（reference chemicals）の選定に関して、トレーニングセット構築における物質選定の考え方（機序ベースか、濃度反応挙動ベースか）、AOP不足、物質選定プロセスの迅速化において課題があり、引き続き議論することが確認された。

C-3-3. その他会議

1) 日本動物実験代替法学会第38回大会

がんの発生分子機構に関する新しい知NAMsに関する広範囲の報告が為され、現状認識、課題の抽出とそれに対する議論、今後の展望などが示された。

中江は、「食品の安全性・機能性評価における動物実験代替の取り組み」と題するシンポジウムの座長を務めた。当該シンポジウムにおいては、*in silico* 予測、ビッグデータ利用、リードアクロス、オミクス解析などを利用した動物実験代替などについて食品分野に特化した演題4題の講演があった。

D. 考察

OECDにおける我が国の成果物は、皮膚感作性試験代替法 EpiSensA, ADRA 及び IL-8 Luc assay が GL497（Defined Approach Skin Sensitization）及び免疫毒性試験 IL-2 Luc LTT が TG444A にそれぞれ追加収載されたことである。さらに眼腐食性及び強度刺激性物質を同定するためのウシ角膜を用いる混濁度及び透過性試

験 (TG437) に病理標本に利用に関する記載が追記された。今年度も 3 つの我が国発の試験法を TG に収載することができた。

来年度も、皮膚感作性試験代替法 α -SENS 及び Epi2SensA の TG 収載に向け、尽力している。さらに、発がん性試験代替法 Bhas 42 CTA の TG 化に関しては、メカニズム解析に関する詳細な文献レビューを、2026 年中に行う予定である。また、*in vitro* toxicokinetics 及び *in vitro* 腎毒性試験法などの NAM 開発の OECD 提案もなされており、継続性を重んじた活動を続けている。

AOP、TG 及び IATA の実験データ支援に関しては、得られた結果や毒性発現機序の知見は、*in vitro* 試験法の適用範囲を検討するための重要なデータとなり、最終的には、取得したデータによって構築される AOP の枠組みに基づいた NAM の開発・活用につながると考えられる。加えて、国内外で開発される NAM に対し、科学的・行政的観点からコメントを行う際にも有益であると考えられる。引き続き、AOP 作成に資する実験データを蓄積する必要があり、論文投稿を目指していく。

本研究により得られた成果が、化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）や毒物及び劇物取締法（毒劇法）などの我が国の厚生労働行政に反映されることを期待している。

E. 健康危険情報

特になし

F. 結論

2025 年の WNT 会議後に、皮膚感作性試験代替法 EpiSensA, ADRA 及び IL-8 Luc assay が GL497 (Defined Approach Skin Sensitization) 及び免疫毒性試験 IL-2 Luc LTT が TG444A にそれぞれ追加収載された。さらに眼腐食性及び強度刺激性物質を同定するためのウシ角膜を用いる混濁度及び透過性試験 (TG437) に病理標本に利用に関する記載が追記され、9 月までに OECD のホームページで公開された。

本研究で得られた結果や毒性発現機序の知見は、*in vitro* 試験法の適用範囲を検討するための重要なデータとなり、最終的には、取得したデータによって構築される AOP の枠組みに基づいた NAM の開発・活用につながると考えられる。

G. 研究発表

G-1. 論文発表

1. Mitsumoto T, Ishii Y, Takimoto N, Takasu S, Namiki M, Toyoda T, Ogawa K. Evaluation of 2-isopropyl-N-2,3-trimethylbutyramide by a comprehensive toxicity study using *gpt* delta rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2026;507:117686.
2. Matsushita K, Akane H, Akagi J, Morikawa T, Mizuta Y, Ogawa K, Toyoda T. Possible involvement of tubular interleukin-34 in macrophage recruitment during colistin-induced nephrotoxicity in rats, *J Toxicol Sci*. 2026;51:163-172.
3. Murata Y, Akagi J, Doi Y, Iso T, Umamo T, Masumura K, Matsumoto M, Toyoda T, Ogawa K. Evaluation of 13-week repeated-dose oral toxicity of zirconium(IV) butoxide

- in Crl:CD(SD) rats. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2026;164:105968.
4. Ambe K. Development of a Data-Driven Prediction Model of Adverse Drug Reactions Using Large-Scale Medical Information and Machine Learning. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*. 2026; 49(2) 213-219.
 5. Ambe K, Kinoshita K, Tokunaga J, Satake R, Murasaki W, Tohkin M, Yamada T, Ashikaga T. ExSERA: The Explainable Machine Learning Model for Skin Sensitization Risk Assessment. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2026;169:106100.
 6. Saito H, Suga K, Fujihara K, Mutsuga M, Yokota S, Nishimura T, Kitajima S. Exposure to xylene early in life induces memory abnormalities of adult male mice. *Exp Anim*. 2026;75(2):222-233.
 7. Nishimura T, Okubo Y, Naota M, Suzuki Y, Suzuki M, Watanabe K, Nakazawa T, Kuwagata M, Onodera H, Hirabayashi Y. Challenges in the Nonclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals and Perspectives for Revision of the ICH S6 Guideline Based on Analysis of Approved Products in Japan, *Translational and Regulatory Sciences*, 2026, (online ahead of print)
 8. Murakami R, Imanura M, Takeshita T, Kojima H, 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
 9. 小島肇夫. NAMs の開発, *Cosmetic Science*, 2025;6:28-35.
 10. 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
 11. 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.
 12. 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、pp70-173、2025
 13. Ohmori K. Oncotransformation in Bhas 42 Cell Transformation Assay by Typical Non-Genotoxic Carcinogens, PFOA and PFOS, and Time-Course Transcriptome Analysis, *Biomolecules* 2025, 15, 1431.
 14. Negoro R, Deguchi S, Yamazaki D, Takayama K, Fujita T. Genome edited intestine liver on a chip system for integrated intestinal hepatic drug absorption and metabolism evaluation. *Sci Rep*. 2025;15(1):38609.
 15. Vachiraarunwong A, Fujioka M, Alexander DB, Suzuki S, Guo R, Qiu G, Kawamura Y, Shibano K, Noura I, Praseatsook K, Akane H, Takasu S, Tsuda H, Ogawa K, Wanibuchi H, Gi M. Developing a novel *in vitro* toxicity assay for predicting inhalation toxicity in rats. *Toxicol Lett*. 2025;111803.

G-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)
2. Ashikaga T. NAMs development in Japan: Past, Present and Future, International Workshop on the Standardization and Validation of

- Advanced Alternative Testing Methods (2025.4.29)
3. 豊田武士. 抗甲状腺物質の *in vivo* 評価法開発および *in vitro* 系との比較. 第 32 回 HAB 研究機構学術年会 (2025.5.9)
 4. 安部賀央里. 安全性評価におけるデータサイエンスの活用. ロボット・AI・ビッグデータ 創薬シンポジウム (2025.5.10)
 5. 佐竹里野, 徳永朱莉, 木下啓, 岩佐帆乃夏, 波多野浩太, 中村伸昭, 足利太可雄, 安部賀央里. Development of machine learning models for predicting skin sensitization intensity - Use of the amino acid derivative binding test ADRA-. 第 53 回日本毒性学会学術年会 (2025.7.2)
 6. 豊田武士, 赤根弘敏, 石井雄二, 小川久美子. ラット反復経口投与毒性試験における抗甲状腺物質の検出および機序推定. 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025.7.2)
 7. 山上洋平, 石井雄二, 中村賢志, 原島洋文, 高須伸二, 相馬明玲, 豊田武士, 村上智亮, 小川久美子. アセトアミド誘発ラット肝腫瘍で見られた染色体外環状 DNA の特徴とクロモスリプシスの関与. 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025.7.2)
 8. 酒井寛泰, 木山美穂, 染谷柚杏, 北村陽佳, 与那嶺 栞, 里史明, 今理紗子, 五十嵐信智, 千葉義彦, 細江智夫, 小川久美子. シスプラチンおよびピンクリスチン投与によるマウス皮膚におけるコラーゲンおよびエラスチンの発現抑制. 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025.7.2)
 9. 小川久美子, 松下幸平, 豊田武士. 非ヒト霊長類の代替法に関する研究 - 免疫毒性の視点から -. 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025.7.3)
 10. 村上諒一, 今村弥佳, 館下正和, 杉山聡, 松本優香, 小島肇, 疋田泰士. ルールベースモデル、LLNAおよび GPMA 統計モデルを用いた複数の Key Event に基づく皮膚感作性 *in silico* コンセンサスモデル第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025.7.3)
 11. 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)
 12. 畝山瑞穂, 赤根弘敏, 森川朋美, 豊田武士. Crl:CD(SD)ラットにおける Perfluorobutanesulfonic acid の生体影響解析. 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025.7.3)
 13. 相馬明玲, 石井雄二, 山上洋平, 高須伸二, 豊田武士, 小川久美子. アセトアミドの大型小核形成に関わる構造的特徴の検討. 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025.7.3)
 14. 石井雄二, 高須伸二, 山上洋平, 相馬明玲, 豊田武士, 小川久美子. カルバミン酸メチルのラット肝発がん機序の検討. 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025.7.3)
 15. 赤根弘敏, 畝山瑞穂, 森川朋美, 小坂忠司, 青山博昭, 小川久美子, 豊田武士. ラット 28 日間反復投与毒性試験における病理組織学的及び免疫組織化学的解析による TSH 産生阻害剤の検出および機序推定. 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025.7.3)
 16. 森華奈子, 足利太可雄, 小野美都穂,

- 江畑知憲, 杉本航, 田中利男, 平田普三, 小島肇. ゼブラフィッシュを用いた発生毒性試験代替法の現状及び動向, 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025.7.3)
17. 齊藤洋克, 菅康佑, 藤原恒司, 六鹿元雄, 横田理, 西村拓也, 北嶋聡. 生後発達期のキシレン曝露による成熟後雄マウスの行動影響解析 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025.7.3)
 18. 西村拓也, 平林容子, 小川久美子, 高橋祐次, 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, 日本毒性学会学術年会 第 52 回 (2025.7.4)
 19. Ashikaga T. Development of IATA for respiratory sensitization based on the AOP and the status of DRP development in OECD, RIFM Respiratory Research Workshop (2025.7.15)
 20. 高須伸二, 石井雄二, 相馬明玲, 豊田武士, 小川久美子. レポーター遺伝子導入動物を用いた香料化合物の *in vivo* 遺伝毒性・発がん性の評価. 第 38 回発癌病理研究会 (2025.8.22)
 21. 松下幸平, 豊田武士, 赤根弘敏, 赤木純一, 森川朋美, 水田保子, 小川久美子. 急性腎障害から慢性腎臓病への移行における CD44 の予測指標としての有用性の検証. 第 168 回日本獣医学会 (2025.9.4)
 22. Ashikaga T. Development and regulatory acceptance of NAMs in Japan: Current status and future, 13th World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences (WC13) (2025.9.3)
 23. 小池英子, 足利太可雄. *In vitro* 呼吸器感作性試験の行政活用における国際動向と JaCVAM の取り組み, 第 32 回日本免疫毒性学会学術年会 (2025.9.5)
 24. 青島萌乃歌, 松村一史, 田邊郁也, 石川晋吉, 溝口出, 善本隆之, 足利太可雄. 化学物質の *in vitro* 呼吸器感作性評価における再構成ヒト気管支上皮の活用, 第 32 回日本免疫毒性学会学術年会 (2025.9.5)
 25. 山崎大樹, 木村啓志, 足利太可雄, 堀武志, 佐藤薫, 最上由香里, 石田誠一. 生体模倣システム (MPS) の行政的利用の推進戦略と評価法構築での考慮事項, 第 15 回 レギュラトリーサイエンス学会学術大会 (2025.9.6)
 26. 畝山瑞穂, 赤根弘敏, 森川朋美, 高須伸二, 小川久美子, 豊田武士. 免疫染色を用いたラット肝発がん物質早期検出法の開発. 第 11 回次世代を担う若手のためのレギュラトリーサイエンスフォーラム (2025.9.13)
 27. 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)
 28. 赤根弘敏, 松下幸平, 畝山瑞穂, 森川朋美, 高須伸二, 小川久美子, 豊田武士. 病理組織学的及び免疫組織化学的解析を用いた VA-K-14 のラットにおける抗甲状腺作用機序の評価. 第 84 回日本癌学会学術総会 (2025.9.25)
 29. 赤木純一, 曹永晩, 横井雅幸, 花岡文雄, 松下幸平, 豊田武士, 小川久美子. 野生型および Pol κ 欠損マウスにおけるベンゾ[a]ピレン誘発前胃腫瘍

- の突然変異解析. 第 84 回日本癌学会学術総会 (2025.9.25)
30. Kojima H. NAMs in Regulatory toxicology, Beihang University - Japan Universities Seminar on Biomedical Engineering, Biomaker and Environmental Health Collaboration (2025.10.17)
 31. 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)
 32. 小川久美子, 赤根弘敏, 豊田武士. 機序に基づく抗甲状腺物質の *in vivo* 評価法開発と国際動向. 日本動物実験代替法学会 第 28 回大会 (2025.11.1)
 33. 岩佐帆乃夏, 波多野浩太, 佐竹里野, 徳永朱莉, 木下啓, 中村伸昭, 足利太可雄, 安部賀央里. 皮膚感作性強度予測モデルを使用した混合物の感作性強度評価, 日本動物実験代替法学会 第 38 回大会 (2025.11.2)
 34. Kojima H., Sakai Y. 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)
 35. 足利太可雄. 化粧品・医薬部外品の安全性評価における代替法の開発動向 ―局所毒性を中心に―, 日本動物実験代替法学会 第 38 回大会 (2025.11.3)
 36. 足利太可雄. 化粧品における NAMs 技術の受け入れ状況とこれから ―全身毒性を中心に―, 日本動物実験代替法学会 第 38 回大会 (2025.11.3)
 37. 佐竹里野, 徳永朱莉, 木下啓, 岩佐帆乃夏, 波多野浩太, 中村伸昭, 足利太可雄, 安部賀央里. Next Generation Risk Assessment 事例研究: 酸化染料を用いた定量的皮膚感作性リスク評価. 日本動物実験代替法学会 第 38 回大会 (2025.11.3)
 38. 廣田京飛, 太森清美, 内田和歌奈, 山岸夏望, 小沼泰子, 宮本健司, 内田絢斗, 白川真一, 福田淳二. Vision Transformerを用いた Bhas42 細胞形質転換試験のフォーカス判定モデルの構築. 日本動物実験代替法学会第 37 回大会 (2025.11.1-3)
 39. 山上洋平, 石井雄二, 高須伸二, 相馬明玲, 豊田武士, 村上智亮, 小川久美子. アセトアミド誘発大型小核によるクロモスリプシス様染色体再構成と肝発がんへの寄与. 日本環境変異原ゲノム学会 第 54 回大会 (2025.11.23)
 40. 石井雄二, 高須伸二, 山上洋平, 相馬明玲, 豊田武士, 小川久美子. カルバミン酸メチルのラット肝発がんにおけるクロモスリプシス様染色体再構成の関与の検討. 日本環境変異原ゲノム学会第 54 回大会 (2025.11.23)
 41. Ashikaga T., Mizoguchi I., Yoshimoto T. Development of Integrated Approaches to Testing and Assessment for respiratory sensitization based on the AOP, International Conference on Stem Cell and Organoid Biology (ICSCOB-25) (2025.11.25-26)
 42. 赤木純一, 横井雅幸, 三宅ゆみ, 松下幸平, 菅澤薫, 岩井成憲, 豊田武士. アクリルアミド代謝物により誘導される多様な DNA 修飾とその生理的影響. 第 48 回日本分子生物学会年会 (2025.12.3)

43. 吉田彩夏, 橋本由弥, 赤根弘敏, 豊田武士, 小川久美子, 齋藤嘉朗, 花尻(木倉)瑠理, 荒川憲昭. 薬剤性間質性肺炎における Stratifin の発現変動の機序解析. 第 46 回日本臨床薬理学会学術総会 (2025.12.5)
44. 西村拓也, 高橋祐次, 豊田武士, 角田聡, 鈴木睦, 佐藤玄, 小川久美子, 山田隆志, 平林容子. 毒性試験用語の標準化に向けた用語集改訂と継続的な更新が可能なデータベース化への取り組み, 医薬品毒性機序研究会 第 8 回 (2025.12.11)
45. 畠山瑞穂, 高須伸二, 赤根弘敏, 森川朋美, 小川久美子, 豊田武士. 免疫染色結果に基づく決定木分析によるラット肝発がん物質の早期検出法の検討. 第 42 回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2026.1.22)
46. 井上瑠七, 竹田明梨, 大橋知紗, 佐野心優, 畠中理園, 宇野絹子, 煙山紀子, 前川竜也, 美谷島克宏. デキサメタゾン投与によるマウス *in vivo* 毒性評価と *in vitro* 腸管毒性評価系構築に向けた検討. 第 42 回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2026.1.22)
47. 石井雄二, 高須伸二, 山上洋平, 相馬明玲, 豊田武士, 小川久美子. カルバミン酸メチルのラット肝発がん過程におけるクロモスリプシスの関与. 第 42 回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2026.1.23)
48. 高須伸二, 赤根弘敏, 畠山瑞穂, 森川朋美, 豊田武士. フラン誘発肝傷害の早期に生じる肝漿膜下領域における変化の経時的解析. 第 42 回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2026.1.23)
49. 赤根弘敏, 高須伸二, 畠山瑞穂, 森川朋美, 小坂忠司, 青山博昭, 小川久美子, 豊田武士. 免疫組織化学的解析を用いたヨウ素取込み及び脱ヨウ素酵素阻害剤のラットにおける抗甲状腺作用の評価. 第 42 回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2026.1.23)
50. Satake R, Tokunaga J, Kinoshita K, Iwasa H, Hatano K, Nakamura N, Arakawa H, Yamada T, Ashikaga T, Ambe K. Next Generation Risk Assessment Case Study: A Quantitative Machine Learning Approach for Skin Sensitization in Oxidative Hair Dyes. 65th Annual Meeting of the Society of Toxicology (2026.3.22)
51. Pellevoisin C, Kojima H, Hoffmann S, Ashikaga T, Landry T, Romero C, Guntur K, Klausner M, Stadnicki J, Gehrke H, Mills-Goodlet R, Panousi N, Johnson V. J, Narita K, Tachibana S, Kojima K, Armento A. Me-Too Validation of the Epi2SensA Method Using EpiDerm Model for Skin Sensitization Testing Under OECD TG442D, 65th SOT (2026.3.25)
52. 畠山瑞穂, 高須伸二, 赤根弘敏, 森川朋美, 豊田武士. 雄性 Crl:CD(SD)ラットを用いた 2,2,3,3,4,4,4-heptafluoro-1-butanol の 28 日間反復経口投与毒性試験. 第 13 回日本獣医病理学専門家協会学術集会 (2026.3.26)
53. 石井雄二, 山上洋平, 高須伸二, 相馬明玲, 豊田武士, 小川久美子. Acetamide のラット肝発がんに関与

- する大型小核の形成機序. 日本薬学会第 146 年会 (2026.3.27)
54. 松下幸平. 薬剤性腎障害の可逆性を予測する新規評価系の開発. 第 146 回日本薬学会 (2026.3.27)
55. 安部 賀 央 里. New Approach Methodologies(NAMs)を活用した皮膚感作性強度予測に向けた機械学習モデルの開発. シンポジウム産官学：医薬品安全性研究におけるレギュラトリーサイエンスを再考する. 日本薬学会第 146 年会 (2026.3.27)
56. 山崎大樹. 生体模倣システム(MPS)の行政的利活用に向けた動向. 日本薬学会第 146 年会(2026.3.28)
57. Matsushita K, Akane H, Akagi J, Morikawa T, Mizuta Y, Ogawa K, Toyoda T. CD44 expression in renal tubules during maladaptive repair in AKI to CKD transition. World Congress of Nephrology 2026 (2026.03.30)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

H-1. 特許取得

特になし

H-2. 実用新案登録

特になし

H-3. その他

特になし

厚生労働行政推進調査事業費補助金（化学物質リスク研究事業）

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

令和7年度分担研究報告書

肝臓並びに腸管オルガノイドを用いた*in vitro* toxicokinetics(TK)

評価系の構築

研究分担者 美谷島 克宏

東京農業大学 応用生物科学部 教授

研究要旨

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

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

本分担研究では、肝臓・腸管を主たる対象とし、オルガノイドを含む再構築組織を用いて、アウトカムと背景メカニズムの両面から *in vivo* と相関性のある *in vitro* 初回通過効果評価系構築に向けた検討を遂行している。

A. 研究目的

動物実験を用いない全身及び臓器曝露・毒性を評価するため、新たな動物実験代替法の概念として、New Approach Methodology (NAM) の開発が盛んである。NAMとは「動物実験の利用を避けた化学物質の有害性およびリスク評価における情報を用いるための技術、方法、アプローチ、またはその組み合わせ」と米国環境保

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

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

そのうち、本分担研究では、肝臓・腸管を対象とし、初代培養並びにオルガノイドを含む再構成系を用いて、アウトカムと背景メカニズムの両面から *in vivo* と相関性のある *in vitro* 初回通過効果の評価系を構築するための検討に取り組んでいる。

B. 研究方法

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

1) 肝臓について

マウス初代肝細胞は培養数日で代謝活性が落ちることが知られているため、マウス初代肝細胞の代謝活性を検討した。使用した曝露物質とその濃度は以下のようにした（誘導酵素及び処理最終濃度）。

- ① Phenacetin (CYP1A, 50 μ M/L)
- ② Diclofenac (CYP2C9, 5 μ M/L)
- ③ Mephenytoin (CYP2C19, 50 μ M/L)
- ④ Bufuralol (CYP2D6, 10 μ M/L)
- ⑤ Midazolam (CYP3A, 10 μ M/L)

①～⑤カクテル並びに⑤単独の調製液を曝露した。まずは、処理時間を決定するため、肝細胞播種後 5.5、24、48、72 及び 96 時間で細胞生存数を確認し、培地上清の採取を行った。その後、CYP 誘導に関する時間依存的な変動と薬物曝露時間の至適条

件を見出すため、曝露時間を 48 時間まで延長して検討した。上記の検討を通して、細胞播種から 24 時間後にカクテル溶液、コントロール溶液をそれぞれ曝露した。この時 LC-MS/MS による薬物濃度測定用に、曝露後、1、4、24 及び 48 時間で 100 μ L ずつ溶液を回収し、最終 48 時間後には細胞も採材し RNA 回収を行い、CYP 関連遺伝子の発現を解析した。

曝露物質を LC-MS/MS により定量的に解析するため、採取したそれぞれのタイムポイントで 100 μ L の培地に対しアセトニトリルを 200 μ L 添加し、ボルテックス混和、遠心分離（8000 g, 5 min, 4 $^{\circ}$ C）し、上清を HPLC 用の PP 製バイアルに分取した。濃度測定は、共同研究先である崇城大学に依頼した。LC-MS/MS を用いて、薬物曝露直後及び 2 時間後の Midazolam、Bufuralol、Diclofenac、Phenacetin、Mephenytoin の濃度及び各化学物質の代謝物の濃度を測定した。すべての薬物の薬物曝露直後の濃度と 2 時間後の濃度の群ごとの平均を求め、曝露直後の平均濃度から 2 時間後の平均濃度を差し引き、基質消失量として算出した。

2) 腸管について

2-1) Caco-2 細胞における細胞毒性確認試験（予備試験）

肝細胞と同様の被験物質①～⑤カクテル及び⑤単独の調製液を用いて、曝露による細胞毒性、バリア機能に対する影響、細胞中の遺伝子発現解析を実施した。まず、予備試験として Caco-2 細胞に調製液を曝露後、細胞生存率測定 WST-8、TEER 値測定、遺伝子発現解析、蛍光二重免疫染色を実施した。

2-2) オルガノイド作製・薬物代謝試験

C57BL/6J マウス（雄）小腸由来オルガノイドは、VERITAS(STEMCELL)から購入し、

マウス腸管オルガノイド培養プロトコルに従って作製・維持した。一定量培養したオルガノイドを平面化し、被験物質①～⑤カクテルと⑤単独溶液を曝露後、遺伝子発現解析を試みた。また、マウス腸管由来オルガノイドからの平面培養組織においてはバリア機能や堅牢性を示す TEER 値が増加せず、十分な値が得られなかったため、被験液によるオルガノイド組織に対する細胞毒性や遺伝子発現解析の検討については一旦、3D オルガノイド組織をそのまま用いて評価し、曝露濃度及び時間に関する至適条件を検討した。

(倫理面への配慮)

マウス腸管由来のオルガノイド組織の作製・維持にあたり、マウスを使用せず、VERITAS (STEMCELL)の市販のマウス腸管由来のオルガノイドを使用した。これにより本分担研究における規格の標準化を図るとともに使用動物数の削減に貢献した。

C. 研究結果

1) 肝臓について

LC-MS/MSを用いて、薬物曝露直後および2時間後の濃度および各化学物質の代謝物の濃度を測定において、Midazolam、Phenacetin、Mephenytoin、Bufuralolにおいて播種48時間後に薬物曝露した 0.35×10^6 個/well 群は、48時間後に薬物曝露した 0.2×10^6 個/well 群に対して基質の消失量が増加傾向を示したが、統計学的有意差は認められなかった。また、96時間後に薬物曝露した 0.5×10^6 個/well 群は 0.35×10^6 個/well 群、 0.2×10^6 個/well 群に対して増加傾向を示した。 0.35×10^6 個/well 群も 0.2×10^6 個/well 群に対して増加傾向を示したが、統計学的有意差は認められなかった。

Diclofenac において基質消失量は48時間後に薬物曝露した 0.35×10^6 個/well 群は、48時間後に薬物曝露した 0.2×10^6 個/well の群に対して増加傾向を示したが、統計学的有意差は認められなかった。また、96時間後に薬物曝露した 0.5×10^6 個/well 群は 0.35×10^6 個/well 群、 0.2×10^6 個/well 群に対して減少傾向を示した。 0.35×10^6 個/well 群も 0.2×10^6 個/well 群に対して減少傾向を示したが、統計学的有意差は認められなかった。

Midazolam において、細胞播種してから48時間後に薬物曝露した 0.2×10^6 個/well、 0.35×10^6 個/well、細胞播種してから96時間後に薬物曝露した 0.2×10^6 個/well の3群で代謝産物である OH-Midazolam が検出された(図1)。

Phenacetin において、細胞播種してから48時間後に薬物曝露した 0.2×10^6 個/well、 0.35×10^6 個/well、細胞播種してから96時間後に薬物曝露した 0.2×10^6 個/well の3群で代謝産物であるアセトアミノフェンが検出された。

代謝物産生の観点から、Diclofenac、Mephenytoin において、細胞播種してから48時間後に薬物曝露した 0.2×10^6 個/well の群で代謝産物である OH-Diclofenac、OH-Mephenytoin が検出された。

Bufuralol において、細胞播種してから48時間後に薬物曝露した 0.2×10^6 個/well、 0.35×10^6 個/well、細胞播種してから96時間後に薬物曝露した 0.2×10^6 個/well の3群で OH- Bufuralol が検出された。48時間後に薬物曝露した 0.2×10^6 個/well は、 0.35×10^6 個/well と比較して OH-Bufuralol が多く検出された。

さらに、Midazolam の基質消失量は播種から48時間後に薬物曝露した 0.35×10^6 個/well 群は、 0.2×10^6 個/well 群に対して、有意に増加した。 $(p < 0.05)$ 播種から96時間

後に薬物曝露した条件では細胞個数による代謝量の違いに変化は認められなかった。また、代謝物に関しては、播種から 48 時間後に薬物曝露する条件では、 0.35×10^6 個/well 群が 0.2×10^6 個/well 群と比較して、わずかに多く生成されたが、統計学的有意差は認められなかった。播種から 96 時間後に薬物曝露する条件では、 0.2×10^6 個/well 群のみ、代謝物が生成された。

Phenacetin、Bufuralol の基質消失量は、播種から 48 時間後に薬物曝露した 0.35×10^6 個/well の群は、 0.2×10^6 個/well の群に対して、有意に増加した。播種から 96 時間後に薬物曝露した条件では細胞個数による基質消失量の違いに変化は認められなかった。また、代謝物に関しては、播種から 48 時間後に薬物曝露する条件では、 0.2×10^6 個/well の群が 0.35×10^6 個/well 群と比較して、有意に多く生成された。播種から 96 時間後に薬物曝露する条件では、 0.2×10^6 個/well 群のみ、代謝物が生成された。

Mephenytoin は基質消失量に関しては播種から 48 時間後に薬物曝露する群では、 0.35×10^6 個/well が 0.2×10^6 個/well と比較して、有意に増加し、播種から 96 時間後に薬物曝露する群では、 0.35×10^6 個/well が最も基質消失量が大きくなったが、ほかの細胞個数との統計学的有意差は認められなかった。しかし、代謝物は播種から 48 時間後に薬物曝露する群の 0.2×10^6 個/well 群のみ代謝物が生成された。

Dicrofenac の基質消失量は、播種から 48 時間後に薬物曝露した 0.35×10^6 個/well の群は、 0.2×10^6 個/well の群に対して、増加傾向を示したが、統計学的有意差は認められなかった。播種から 96 時間後に薬物曝露した条件では 0.5×10^6 個/well のみ代謝量が小さかったが、統計学的有意差は認められなかった。代謝物は播種から 48 時間後に薬

物曝露する群の 0.2×10^6 個/well 群のみ代謝物が生成された (図 2)。

曝露 48 時間後に RNA を回収し、薬物代謝酵素である CYP3A11、CYP2D9、CYP2C29、CYP2A5、CYP1A2 を計測した。CYP3A11 において Control 群に対してカクテル曝露群の発現量は減少傾向が認められたが統計学的有意差は認められなかった。CYP2A5、CYP1A2 において Control 群に対してカクテル曝露群の発現量が有意に増加した ($p < 0.05$)。CYP2C29、CYP2D9 において Control 群に対してカクテル曝露群の発現量は増加傾向が認められたが統計学的有意差は認められなかった (図 3)。

2) 腸管について

Caco-2 細胞での WST-8 では、Midazolam、カクテルともに生存率に明らかな変化はなく、明らかな細胞毒性は確認されなかった。Caco-2 細胞での TEER 値測定結果より、曝露後時間の経過と共に TEER 値は上昇傾向にあった (図 4)。

また Caco-2 細胞での遺伝子発現解析において、CYP3A4 は Midazolam 群で曝露 24 時間後に上昇した。その他の群においては時間の経過とともに発現量が減少した。ZO-1 はすべての群で曝露後時間の経過とともに発現量が上昇した (図 5)。Caco-2 細胞蛍光二重免疫染色の結果より、明らかな所見はなく、タイトジャンクションの形成には影響がないことが確認された。

オルガノイド組織における遺伝子発現解析では、ZO-1 は Midazolam 群において曝露 1 時間後で Control 群と比較して発現量が増加したが、その後は Control 群より発現量が減少した。Cocktail 群では Control 群と比較して ZO-1 発現量が増加した。CYP3A4 は Midazolam 群においてはすべての時間で Control 群より高い発現量を示し

た (図 6)。

D. 考察

1) 肝臓について

カクテル曝露群において CYP2A5、CYP1A2、CYP2C29、CYP2D9 の増加傾向が認められた。これより薬物曝露により CYP 発現が誘導され、細胞の薬物代謝能が亢進した可能性が示唆された。しかしながらコントロール群と比較して、CYP3A11 のみ減少傾向が認められたが、細胞毒性が原因とは考えにくく更なる精査が必要と考えられた。また、今回の CYP 遺伝子発現解析の結果からは、代謝酵素活性の失活については把握できず、長時間曝露による核内受容体を介した変化として PXR/CAR の発現量または転写活性がダウンレギュレーションされ CYP3A11 発現が低下した可能性も推察された。しかし、本研究では受容体発現量を直接評価していないため、詳細な機序の解明は今後の課題であると考えられた。

LC-MS/MS の結果より、 0.2×10^6 個/well に時間経過に伴う発現量が同程度であったなかで、播種から 48 時間後に薬物曝露群で、代謝物が有意に増加し、 0.2×10^6 個/well かつ播種から 48 時間後に刺激を行った群がより生体内反応に近い条件と考えられた。また、遺伝子発現量については、播種から 96 時間後刺激群で有意に増加した。初代肝細胞は培養数日で代謝活性が落ちることが知られており、本実験の 96 時間培養では、CYP 遺伝子発現は上昇するものの、長時間培養に伴う細胞機能の低下などにより代謝能も低下したことにより、寧ろ、代謝産物は生成されなかったと考えられた。以上より、本分担研究において、細胞数が 0.2×10^6 個/well で、播種から 48 時間後に薬物曝露を行うことが至適条件に近い

と考えられた。

2) 腸管について

Caco-2 細胞を用いた予備検討において、WST-8 による細胞毒性試験の結果から、本実験で曝露する ①～⑤ Cocktail、⑤ Midazolam には、本実験条件下において、細胞毒性は見られないことが示された。Caco-2 細胞での薬物曝露前の TEER 値測定の結果より本実験は TEER 値の上昇が安定したところで薬物曝露がなされた。さらに、Control 群においても、曝露後の TEER 値の上昇が確認でき、遺伝子発現解析の結果、ZO-1 発現も時間経過とともに上昇していた。Control 群でも TEER 値と ZO-1 の発現が上昇したことから、本実験に用いた細胞は、曝露前に TEER 値が上がりきっていなかった可能性もあると考えられた。⑤ Midazolam 群においても、曝露後の TEER 値の上昇が確認でき、遺伝子発現解析の結果、ZO-1 の発現も時間経過とともに上昇した。Control 群と同様に細胞の分化や手技による可能性と Midazolam そのものによる影響の可能性が考えられた。①～⑤ Cocktail 群においても、曝露後の TEER 値の上昇が確認され、ZO-1 の遺伝子発現も時間経過とともに上昇した。これには Cocktail 中の Dicrofenac による影響も推察され、文献情的には Dicrofenac が細胞間のタイトジャンクション発現に影響することが知られており、タイトジャンクションが刺激されバリア機能が強化された可能性も考えられた。また、遺伝子発現解析における Caco-2 細胞では、CYP3A4 は少量発現しているが、生体内と比較すると、その発現量は非常に低いとされている。そのため、本実験では CYP3A4 の結果については正しく確認できていない可能性があると考えられた。さらに、Caco-2 細胞における蛍光二重免疫染色

の結果からは、すべての群において時間経過による明らかな変化は見られなかった。

3Dオルガノイドによる薬物代謝試験において、Midazolam 群での遺伝子発現解析の ZO-1 の結果は、GABA-A 受容体を活性化し、膜電位が変化することで一時的にタイトジャンクションが強化することが知られており、オルガノイドにも GABA-A 受容体が存在するため、同影響による可能性が推察された。CYP3A11 についてはすべての時間において Control 群より高値を示した。小腸では主に CYP3A4 によって代謝が行われており、Midazolam は主に CYP3A4 によって代謝される薬物であることに起因したものと考えられた。Cocktail 群における ZO-1 の遺伝子発現は、ほとんどの時間において Control 群よりも高い発現量となった。Caco-2 細胞と同様、Cocktail 中のジクロフェナクの影響によるものと考えた。CYP3A11 の結遺伝子発現は、8 時間で Control 群より高い発現量を示し、これもカクテル中の Midazolam の影響によるものだと考えた。

腸管オルガノイドでは、十分なオルガノイドを取得し、平面培養化を安定化させるための手技を確立し、評価に資するバリア機能を有する培養条件の確立が最優先と考えられた。引き続き、被験物質として①～⑤カクテル並びに⑤単独溶液を曝露して腸管上皮由来の CYP 発現に関する遺伝子発現解析、曝露時間における上清中の化合物濃度の測定を実施する予定である。

以上、本年度の検討から、今後の小腸由来オルガノイド培養から平面培養による曝露検討に反映させ得る結果が見出された。

E. 結論

腸肝循環の Animal MPS 構築のため、マウスの肝臓細胞ならびに小腸由来オルガノ

イド培養を用いた基礎的データの蓄積を進めた。

肝臓に関する検討では、初回通過効果評価系の確立が目的であるため、代謝活性(基質消失量)よりも代謝物生成量を優先指標とした。これにより、代謝物生成量が最大となる至適条件が見出された。

小腸に関する検討では、予備検討として Caco-2 細胞を用いてバリア機能の確認、化合物曝露の手技的な条件を設定がなされた。これを踏まえ次年度は、マウス腸管由来オルガノイドの平面培養化を行い、より生体環境に近い状態で曝露試験を行う。

最終的に、肝臓および小腸オルガノイドに被験物質を曝露することによる CYP 誘導を含む初回通過の評価系効果の構築や妥当性の証明に寄与する研究を進めていく予定である。

F. 研究発表

F.1. 論文発表

(該当なし)

F.2 学会発表

- 井上瑠七, 竹田明梨, 大橋知紗, 佐野心優, 畠中理園, 宇野絹子, 煙山紀子, 前川竜也, 美谷島克宏. デキサメタゾン投与によるマウス in vivo 毒性評価と in vitro 腸管毒性評価系構築に向けた検討. 第 42 回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2026. 1. 22)

G. 知的財産権の出願・登録状況

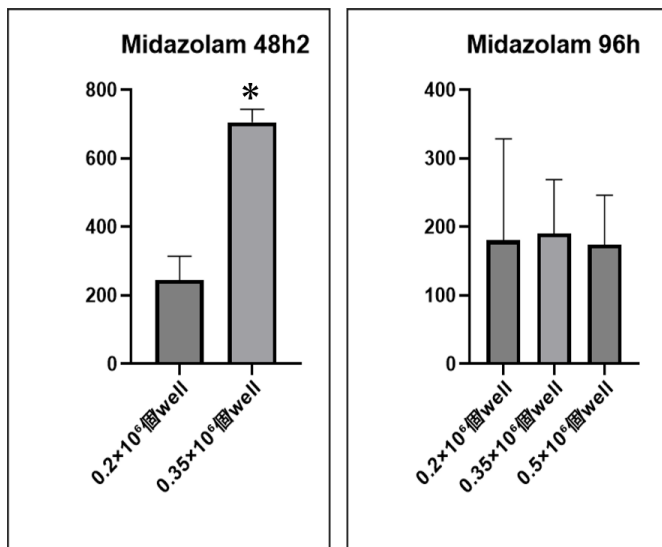
(該当なし)

(予定を含む。)

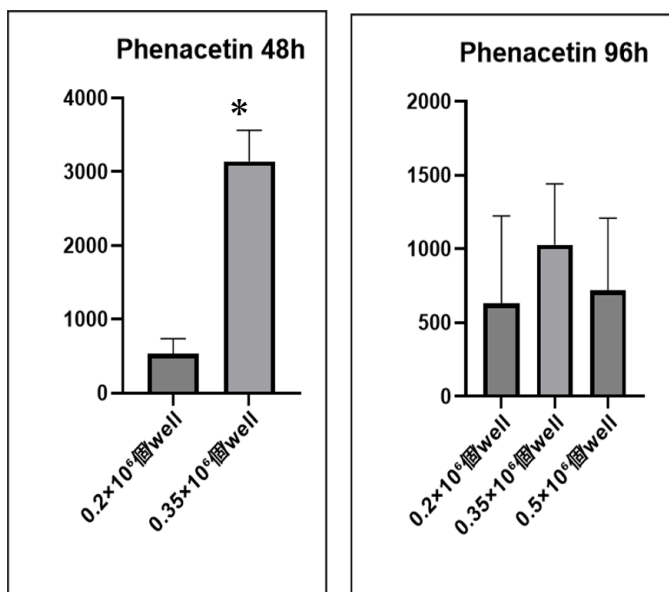
- 特許取得
- 実用新案登録
- その他

図1 LC-MS/MSによる基質消失量測定

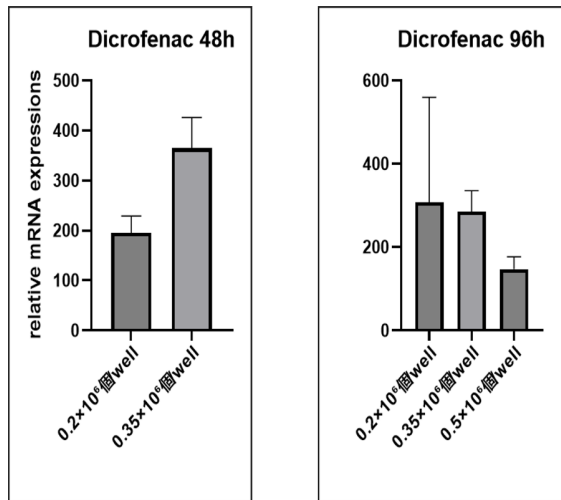
a) Midazolam の基質消失量



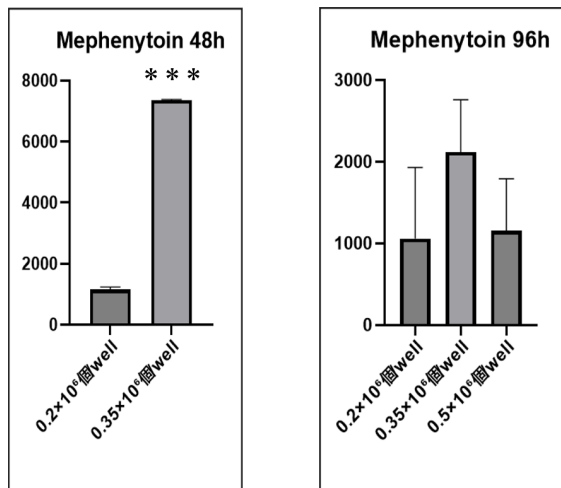
b) Phenacetin の基質消失量



c) Diclofenac の基質消失量



d) Mephenytoin の基質消失量



e) Bufuralol の基質消失量

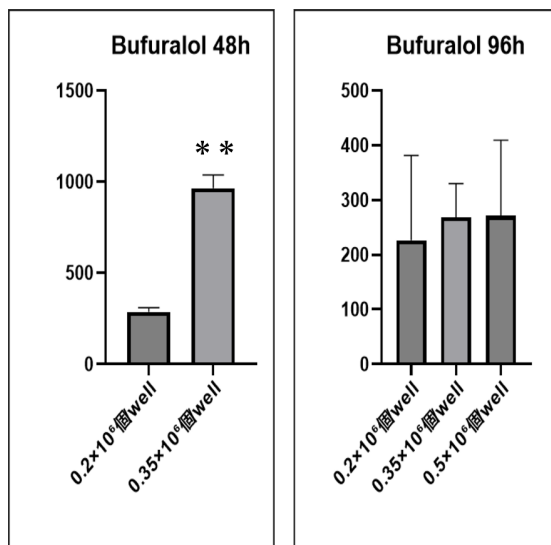
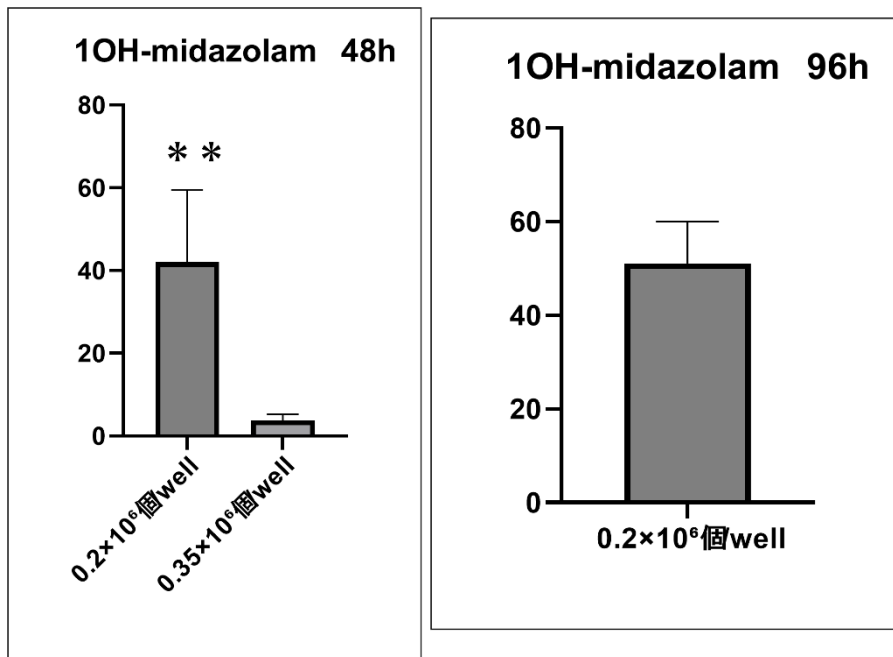
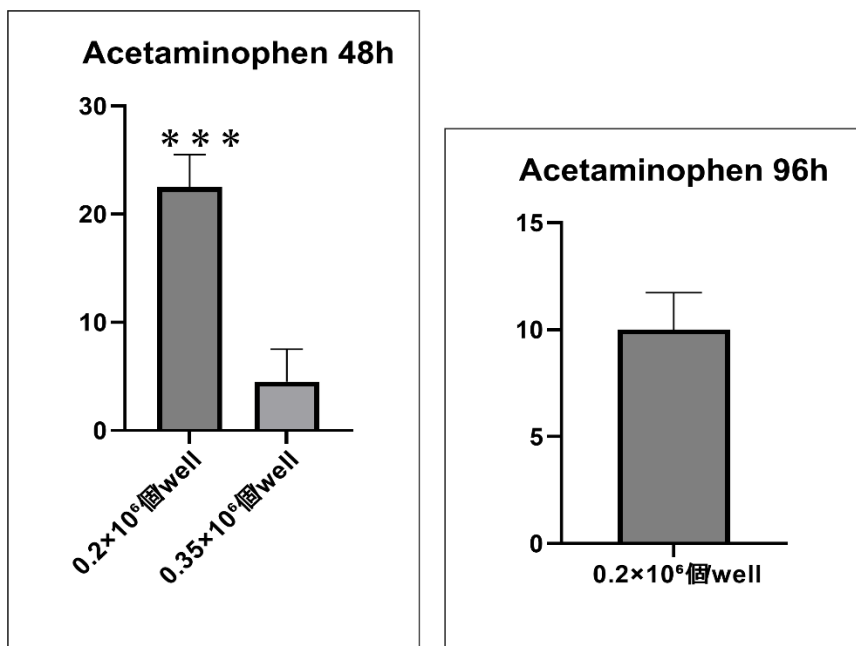


図2 LC-MSMSによる代謝物量測定

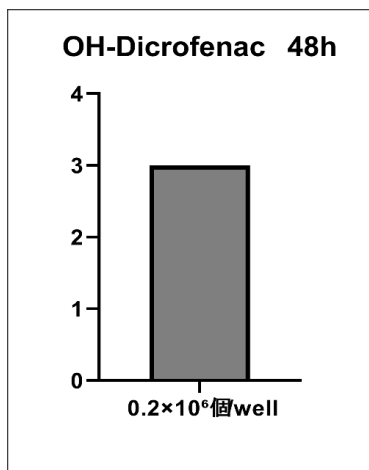
a) Midazolam の代謝物量



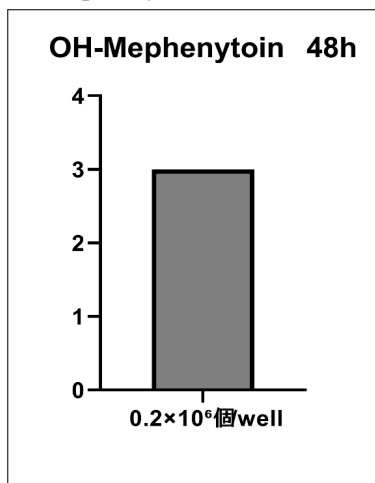
b) Phenacetin の代謝物量(Acetaminophen)



c) Diclofenac の代謝物量



d) Mephenytoin の代謝物量



e) Bufuralol の代謝物量

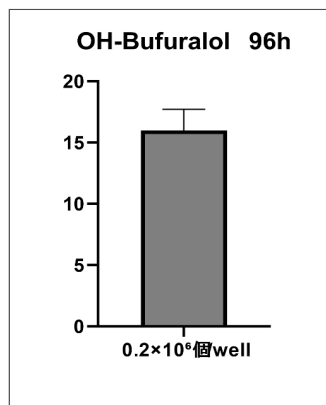
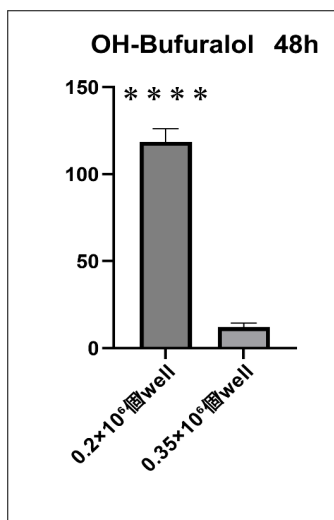
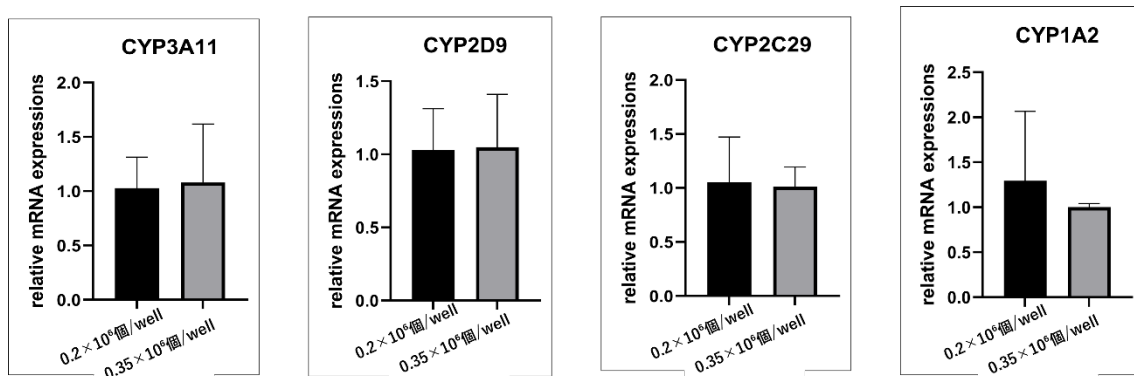


図 3 遺伝子発現解析

a) 濃度比較検討(左 : 0.2×10^6 個/well、右 ; 0.35×10^6 個/well) 播種から 48h 後に曝露



b) 播種から曝露までの時間比較検討 0.2×10^6 個/well

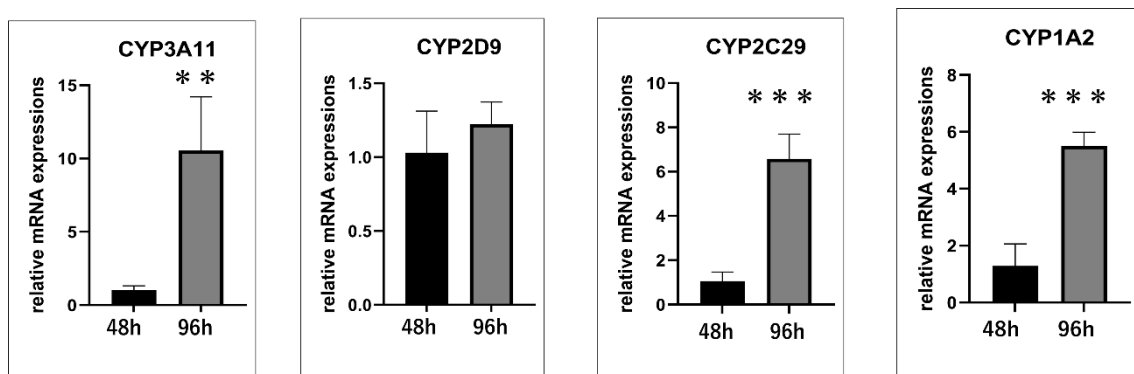


図 4 Caco-2 細胞 TEER 値

図 4-1 Caco-2 TEER 値 薬物曝露前

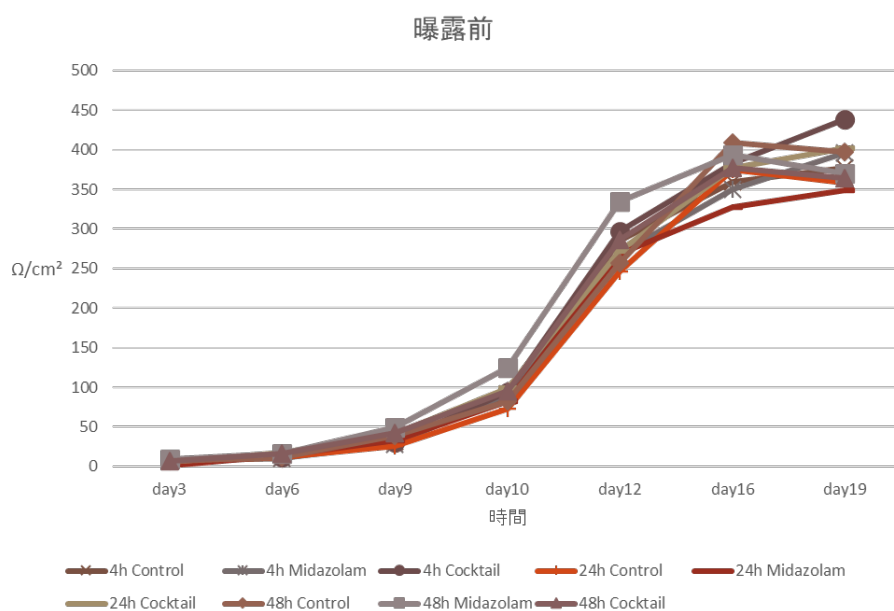


図 4-2 TEER 値 薬物曝露後 Control

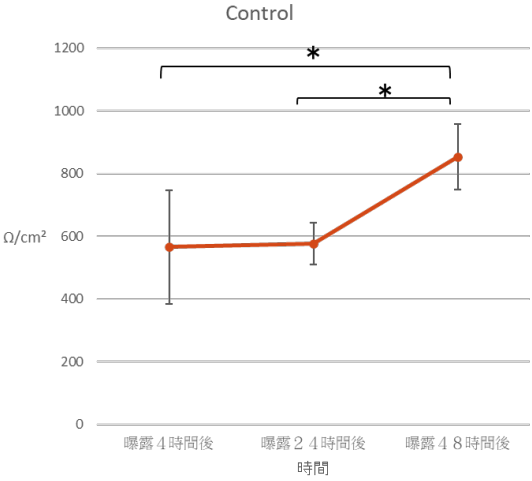


図 4-3 TEER 値 薬物曝露後 Midazolam

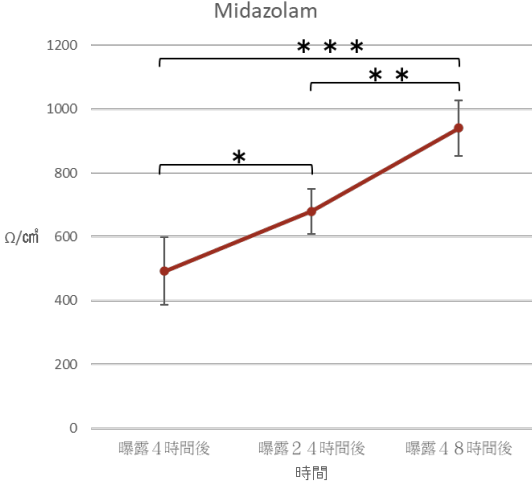


図 4-4 TEER 値 薬物曝露後 Cocktail

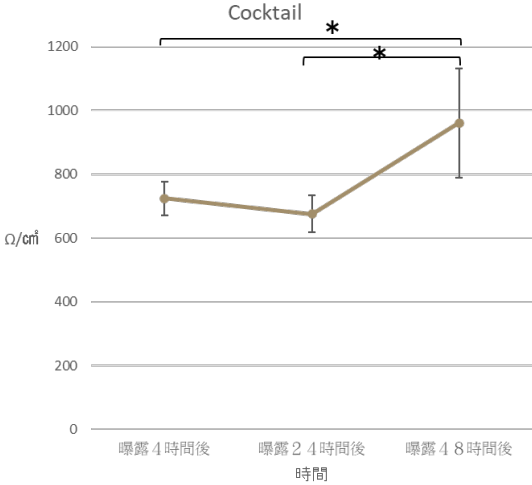


図 5 Caco-2 細胞 遺伝子発現解析 ZO-1

図 5-1 Caco2 PCR ZO-1 Control

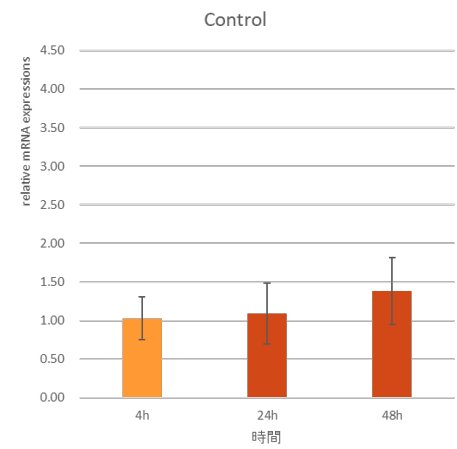


図 5-2 Caco2 PCR ZO-1 Midazolam

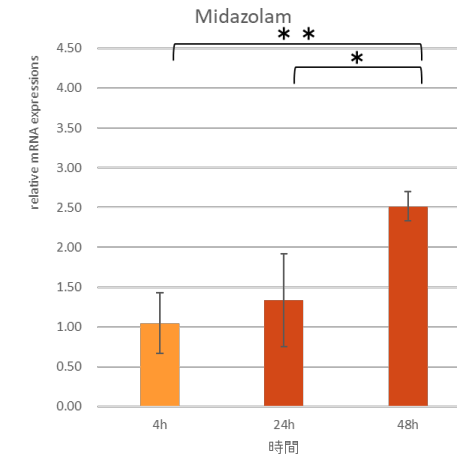


図 5-3 Caco2 PCR ZO-1 Cocktail

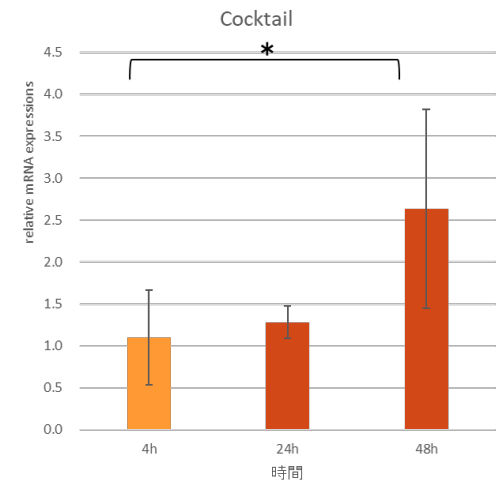


図6 3Dオルガノイド 遺伝子発現解析 CYP3A4

図6-1 3Dオルガノイド CYP3A4 Cocktail

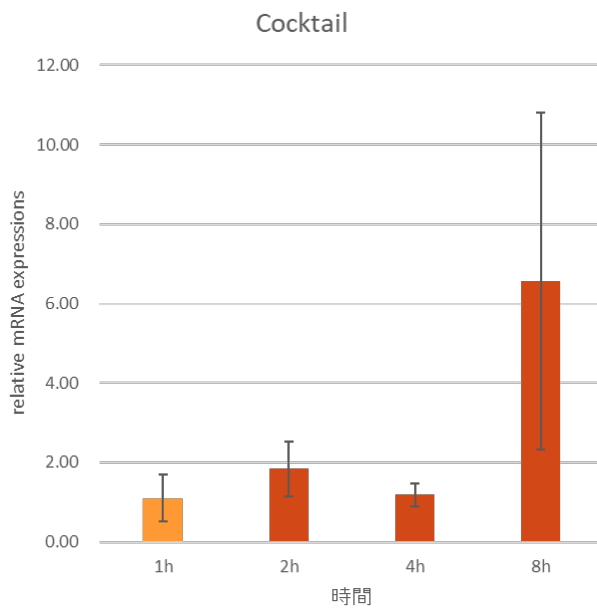
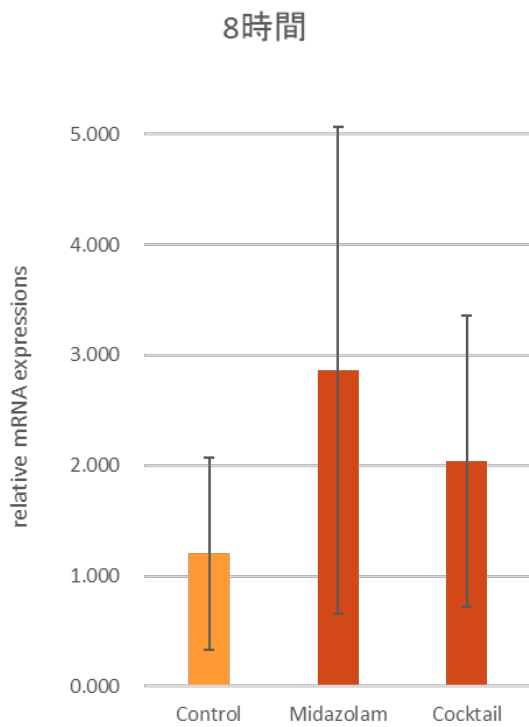


図6-2 3Dオルガノイド CYP3A4 8時間



厚生労働行政推進調査事業費補助金（化学物質リスク研究事業）

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

令和7年度分担研究報告書

発がん性試験におけるAOP、IATA及びTGの開発、及び実験データ支援

研究分担者 豊田武士

国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 病理部 部長

研究要旨

本研究では、DNA 損傷マーカー（ γ -H2AX）の免疫組織化学的解析を用いた、腎発がん物質の早期検出手法の開発を目的とする。令和7年度は、本手法による腎発がん性の評価と腎臓における病理組織学的所見の関係を検証するため、これまでに評価した47物質（腎発がん物質26種を含む）を投与したラット腎臓の病理組織学的解析を実施した。その結果、ラット28日間反復経口投与試験における腎臓の病理所見として尿細管上皮細胞の変性/壊死またはカリオメガリーが認められた場合、 γ -H2AX 陽性細胞の増加を伴うことが多く、腎発がん性の評価に有用な指標となり得ることが示唆された。一方で、 γ -H2AX 形成の有意な増加を示しながら病理組織学的所見の発生頻度増加を伴わない腎発がん物質も5種類認められたことから、 γ -H2AX 免疫染色が最も高感度な指標であることも併せて確認された。以上の結果から、ラットを用いた28日間反復経口投与毒性試験において、腎臓の病理組織学的解析に加えて γ -H2AX 免疫染色を実施することで、腎発がん物質を高い感度・特異度で検出し得ることが示された。

A. 研究目的

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

物質の早期検出にも有用である可能性が示唆された。

そこで本研究では、 γ -H2AX の免疫組織化学的解析による、腎発がん物質の早期検出手法の開発を目的とする。具体的には、様々な被験物質を用いたラット28日間反復経口投与試験を実施し、腎臓における γ -H2AX 形成の定量解析および病理組織学的解析を行う。また、過去に実施した28日間反復投与試験で得られた腎臓についても同様に検討し、 γ -H2AX 形成を指標とした腎発がん物質検出法の妥当性を評価する。

B. 研究方法

令和 7 年度は、 γ -H2AX 免疫染色による腎発がん性の評価と腎臓における病理組織学的所見の関係を検証するため、これまでに評価した 47 物質（腎発がん物質 26 種を含む）を投与したラット腎臓の詳細な病理組織学的解析を実施した。6 週齢、雄の F344 または SD 系ラットに被験物質を 28 日間反復経口投与し、投与終了後に腎臓を採材、ホルマリン固定パラフィン包埋標本を作製し、ヘマトキシリン・エオジン染色を施して鏡検した。各被験物質の投与濃度には、原則として短期試験における最大用量を用いた。

（倫理面への配慮）

動物実験は国立医薬品食品衛生研究所が定める「動物実験の適正な実施に関する規程」に基づいた審査・承認を得た上で、使用する動物数ならびに動物が受ける苦痛を最小限とするよう配慮して実施した。

C. 研究結果

47 物質の投与群のうち、腎臓における尿細管上皮細胞の変性/壊死が 18 物質で認められ、うち 10 物質で発生頻度の有意な増加を伴っていた（表 1）。同所見は多くの腎毒性物質により様々な機序で誘発されるが、10 物質すべての投与群で γ -H2AX 陽性細胞の増加が認められたことから、腎発がん性との相関が示唆された。

また、再生尿細管および間質における炎症細胞浸潤の発生頻度の有意な増加が、それぞれ 12 および 3 物質の投与群において認められ、2 物質（*p*-Cre・MDA）を除きいずれも γ -H2AX 形成の有意な増加を伴っていた。 γ -H2AX は直接的な DNA 損傷のみならず、再生に伴う複製ストレスや、慢性炎症で生じる酸化ストレスによっても

引き起こされることが知られている。変性/壊死と同様に腎発がん性に関連する可能性がある一方、これらの所見は対照群でも一定の頻度で観察されることから、物質ごとに慎重な評価が必要と考えられた。

さらに、近位尿細管上皮細胞における好酸性顆粒の増加または巨大核の出現（カリオメガリー）が、それぞれ 7 物質の投与群に認められた。細胞質における好酸性顆粒は、雄ラットに特異的な α_{2u} グロブリンと推定される。過剰な蓄積に続発する α_{2u} グロブリン腎症は腎発がんに関与することが知られており、本研究において増加を示した 7 物質のうち、*p*-Cre を除く 6 物質で γ -H2AX 陽性細胞の増加が認められた。 α_{2u} グロブリンはヒトには存在しないことから、外挿性を評価する上でも重要な所見と考えられた。カリオメガリーは尿細管上皮細胞の核が顕著に大型化した状態を指し、再生時の DNA 複製の異常による所見と考えられている。必ずしも前がん状態を示すわけではないとされているが、本研究においてカリオメガリーを誘発した 7 物質はすべて γ -H2AX 形成の増加を示した腎発がん物質であったことから、腎発がん性の短期評価において有用な指標になり得ると考えられた。

D. 考察

腎発がん物質 26 種を含む計 47 物質を用いたこれまでの検討において、 γ -H2AX 免疫染色により腎発がん物質を高い感度（84.6%;22/26）および特異度（95.2%;20/21）で判定可能であることを報告した。令和 7 年度は、各被験物質を投与したラット腎臓の詳細な病理組織学的解析を実施し、 γ -H2AX 免疫染色の結果との比較検討を行った。

その結果、ラット 28 日間反復経口投与

毒性試験における腎臓の病理組織学的所見として尿細管上皮細胞の変性/壊死またはカリオメガリーが認められた場合、 γ -H2AX 陽性細胞の増加を伴うことが多く、腎発がん性の評価に有用な指標となり得ることが示唆された。一方で、 γ -H2AX 形成の有意な増加を示しながら、病理組織学的所見の発生頻度増加を伴わない腎発がん物質も 5 種類 (BDCM、2-NF、NMOR、1,2,3-TCP、Phph) 認められたことから、 γ -H2AX 免疫染色が最も高感度な指標であることも併せて確認された。

以上の結果から、腎臓における γ -H2AX 免疫染色および病理組織学的解析は、腎発がん物質の早期検出に有用であることが示された。本手法は、OECD テストガイドライン 407 (齧歯類における 28 日間反復経口投与毒性試験) での実施が容易であることから、化学物質の安全性評価の効率化・迅速化に寄与すると考えられ、今後 OECD への提案について検討を進める予定である。

E. 結論

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

F. 研究発表

F.1. 論文発表

1. Mitsumoto T, Ishii Y, Takimoto N, Takasu S, Namiki M, Toyoda T, Ogawa K. Evaluation of 2-isopropyl-*N*-2,3-trimethylbutyramide by a comprehensive toxicity study using *gpt* delta rats. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2026;507:117686.

doi: 10.1016/j.taap.2025.117686.

2. Murata Y, Akagi J, Doi Y, Iso T, Umamo T, Masumura K, Matsumoto M, Toyoda T, Ogawa K. Evaluation of 13-week repeated-dose oral toxicity of zirconium(IV) butoxide in Crl:CD(SD) rats. *Regul Toxicol Pharmacol*, 2026;164:105968. doi: 10.1016/j.yrtph.2025.105968.

F.2 学会発表

1. 豊田武士. 抗甲状腺物質の *in vivo* 評価法開発および *in vitro* 系との比較. 第 32 回 HAB 研究機構学術年会 (2025.5.9)
2. 豊田武士、赤根弘敏、石井雄二、小川久美子. ラット反復経口投与毒性試験における抗甲状腺物質の検出および機序推定. 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025.7.2)
3. 山上洋平、石井雄二、中村賢志、原島洋文、高須伸二、相馬明玲、豊田武士、村上智亮、小川久美子: アセトアミド誘発ラット肝腫瘍で見られた染色体外環状 DNA の特徴とクロモスリプシスの関与. 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025.7.2)
4. 畠山瑞穂、赤根弘敏、森川朋美、豊田武士: Crl:CD(SD)ラットにおける Perfluorobutanesulfonic acid の生体影響解析. 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025.7.3)
5. 相馬明玲、石井雄二、山上洋平、高須伸二、豊田武士、小川久美子: アセトアミドの大型小核形成に関わる構造的特徴の検討. 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025.7.3)
6. 石井雄二、高須伸二、山上洋平、相馬明玲、豊田武士、小川久美子: カルバミン酸メチルのラット肝発がん機序の

- 検討. 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025.7.3)
7. 赤根弘敏、畝山瑞穂、森川朋美、小坂忠司、青山博昭、小川久美子、豊田武士. ラット 28 日間反復投与毒性試験における病理組織学的及び免疫組織化学的解析による TSH 産生阻害剤の検出および機序推定. 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025.7.3)
8. 高須伸二、石井雄二、相馬明玲、豊田武士、小川久美子：レポーター遺伝子導入動物を用いた香料化合物の *in vivo* 遺伝毒性・発がん性の評価. 第 38 回発癌病理研究会 (2025.8.22)
9. 畝山瑞穂、赤根弘敏、森川朋美、高須伸二、小川久美子、豊田武士：免疫染色を用いたラット肝発がん物質早期検出法の開発. 第 11 回次世代を担う若手のためのレギュラトリーサイエンスフォーラム (2025.9.13)
10. 赤根弘敏、松下幸平、畝山瑞穂、森川朋美、高須伸二、小川久美子、豊田武士. 病理組織学的及び免疫組織化学的解析を用いた VA-K-14 のラットにおける抗甲状腺作用機序の評価. 第 84 回日本癌学会学術総会 (2025.9.25)
11. 赤木純一、曹永晩、横井雅幸、花岡文雄、松下幸平、豊田武士、小川久美子. 野生型および Pol κ 欠損マウスにおけるベンゾ[a]ピレン誘発前胃腫瘍の突然変異解析. 第 84 回日本癌学会学術総会 (2025.9.25)
12. 山上洋平、石井雄二、高須伸二、相馬明玲、豊田武士、村上智亮、小川久美子. アセトアミド誘発大型小核によるクロモスリプシス様染色体再構成と肝発がんへの寄与. 日本環境変異原ゲノム学会第 54 回大会 (2025.11.23)
13. 石井雄二、高須伸二、山上洋平、相馬明玲、豊田武士、小川久美子. カルバミン酸メチルのラット肝発がんにおけるクロモスリプシス様染色体再構成の関与の検討. 日本環境変異原ゲノム学会第 54 回大会 (2025.11.23)
14. 赤木純一、横井雅幸、三宅ゆみ、松下幸平、菅澤薫、岩井成憲、豊田武士. アクリルアミド代謝物により誘導される多様な DNA 修飾とその生理的影響. 第 48 回日本分子生物学会年会 (2025.12.3)
15. 吉田彩夏、橋本由弥、赤根弘敏、豊田武士、小川久美子、齋藤嘉朗、花尻(木倉)瑠理、荒川憲昭. 薬剤性間質性肺炎における Stratifin の発現変動の機序解析. 第 46 回日本臨床薬理学会学術総会 (2025.12.5)
16. 畝山瑞穂、高須伸二、赤根弘敏、森川朋美、小川久美子、豊田武士：免疫染色結果に基づく決定木分析によるラット肝発がん物質の早期検出法の検討. 第 42 回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2026.1.22)
17. 石井雄二、高須伸二、山上洋平、相馬明玲、豊田武士、小川久美子：カルバミン酸メチルのラット肝発がん過程におけるクロモスリプシスの関与. 第 42 回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2026.1.23)
18. 高須伸二、赤根弘敏、畝山瑞穂、森川朋美、豊田武士：フラン誘発肝傷害の早期に生じる肝漿膜下領域における変化の経時的解析. 第 42 回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2026.1.23)
19. 赤根弘敏、高須伸二、畝山瑞穂、森川朋美、小坂忠司、青山博昭、小川久美子、豊田武士：免疫組織化学的解析を用いたヨウ素取込み及び脱ヨウ素酵素

阻害剤のラットにおける抗甲状腺作用
の評価. 第 42 回日本毒性病理学会総会
及び学術集会 (2026.1.23)

20. 畝山瑞穂、高須伸二、赤根弘敏、森川
朋美、豊田武士. 雄性 Crl:CD(SD)ラッ
トを用いた 2,2,3,3,4,4,4-heptafluoro-1-
butanol の 28 日間反復経口投与毒性試
験. 第 13 回日本獣医病理学専門家協会
学術集会 (2026.3.26)

21. 石井雄二、山上洋平、高須伸二、相馬
明玲、豊田武士、小川久美子.
Acetamide のラット肝発がんに関与する
大型小核の形成機序. 日本薬学会第 146
年会 (2026.3.27)

G. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

1. 特許取得
該当なし

2. 実用新案登録
該当なし

3. その他
該当なし

表 1. 47 種の化学物質を 28 日間反復経口投与した雄ラット腎臓における代表的な病理組織学的所見

Table. Representative histopathological findings in the kidney of male rats orally treated with chemicals for 28 days

		Number of animals examined	Increased γ-H2AX	Result of Ames test	Degeneration/ necrosis (±, +, ++)	Regenerative tubule (±, +, ++)	Inflammation, interstitial (±, +)	Eosinophilic granule (±, +)	Karyomegaly (+)
Control (total)		69 ^a	-	N/A	0	6 (6, 0, 0)	7 (7, 0)	0	0
<i>Renal carcinogen</i>									
1-Amino-2,4-dibromoanthraquinone	ADBAQ	5	+	+	3 (3, 0, 0)	5** (3, 2, 0)	2 (2, 0)	5** (5, 0)	0
1-Amino-2-methylantraquinone	Disperse orange	5	+	+	1 (0, 1, 0)	4* (0, 1, 3)	3 (3, 0)	0	0
Aristolochic acid I	AAI	5	+	+	0	3 (3, 0, 0)	5 (1, 4*)	0	5**
Azoxymethane	AOM	5	+	+	4* (4, 0, 0)	1 (1, 0, 0)	4* (4, 0)	0	2
Bromodichloromethane	BDCM	5	+	+	2 (2, 0, 0)	0	0	0	0
1,3-Dichloro-2-propanol	1,3-DCP	5	-	+	0	0	0	0	0
Dimethylnitrosamine	DMN	5	+	+	1 (1, 0, 0)	4* (4, 0, 0)	5** (5, 0)	0	0
N-Ethyl-N'-hydroxyethylnitrosamine	EHEN	5	+	+	5** (5, 0, 0)	1 (1, 0, 0)	0	0	3
Hydroquinone	HQ	5	-	+	0	1 (1, 0, 0)	0	0	0
8-Methoxypsoralen	8-MOP	5	+	+	5** (1, 4, 0)	5** (0, 0, 5)	0	0	0
2-Nitrofluorene	2-NF	5	+	+	0	1 (1, 0, 0)	2 (2, 0)	0	0
Nitrofurantoin	NFT	5	+	+	5** (5, 0, 0)	0	0	5** (0, 5)	0
N'-Nitrosomorpholine	NMOR	5	+	+	0	0	1 (1, 0)	0	0
Potassium bromate	KBrO ₃	5	+	+	3 (3, 0, 0)	5** (4, 1, 0)	1 (1, 0)	5** (0, 5)	0
Quercetin		5	+	+	2 (2, 0, 0)	3 (2, 1, 0)	2 (2, 0)	3 (1, 2)	0
1,2,3-Trichloropropane	1,2,3-TCP	5	+	+	0	0	0	0	0
Tris(2,3-dibromopropyl) phosphate	TBPP	5	+	+	0	5** (0, 5, 0)	2 (2, 0)	0	5**
3-(4-Chlorophenyl)-1,1-dimethylurea	Monuron	5	-	-	5** (5, 0, 0)	0	0	0	5**
Chlorothalonil	CTN	5	-	-	0	3 (3, 0, 0)	0	0	0
Hexachlorobutadiene	HCBD	5	+	-	5** (5, 0, 0)	5** (5, 0, 0)	2 (2, 0)	5** (5, 0)	0
Lead(II) acetate trihydrate	LAT	5	+	-	0	0	0	0	5**
d-Limonene	LIM	5	+	-	5** (0, 5, 0)	5** (0, 3, 2)	2 (2, 0)	5** (0, 5)	0
Ochratoxin A	OTA	5	+	-	5** (0, 5, 0)	5 (0, 0, 5**)	1 (1, 0)	0	5**
Phenolphthalein	Phph	5	+	-	1 (1, 0, 0)	2 (2, 0, 0)	1 (1, 0)	0	0
Tris(2-chloroethyl) phosphate	TCEP	5	-	-	0	1 (0, 1, 0)	0	0	0
Trisodium nitrilotriacetate monohydrate	NTA	5	+	-	5** (0, 1, 4)	0	2 (1, 1)	0	0
<i>Non-renal carcinogen</i>									
2-Acetylamino fluorene	2-AAF	5	-	+	1 (0, 1, 0)	0	0	0	0
4-Aminoazobenzene hydrochloride	AAB	5	-	+	0	0	0	0	0
p-Cresidine	p-Cre	4	-	+	0	3* (1, 2, 0)	0	4** (2, 2)	0
3,3'-Dichlorobenzidine dihydrochloride	DCB	5	-	+	0	1 (1, 0, 0)	0	0	0
Glycidol		5	-	+	0	0	0	0	0
4,4'-Methylenebis(2-chloroaniline)	MOCA	5	-	+	0	0	0	0	0
4,4'-Methylenedianiline	MDA	5	-	+	0	5** (3, 2, 0)	2 (2, 0)	0	0
N-Nitrosodiethylamine	DEN	5	-	+	0	0	1 (1, 0)	0	0
Acrylamide		5	-	-	0	2 (2, 0, 0)	1 (1, 0)	0	0
Chlorendic acid	CRA	4	-	-	0	0	0	0	0
Chlorobenzene	CB	5	-	-	0	0	0	0	0
Clofibrate	CFB	4	-	-	0	0	0	0	0
Furan		5	-	-	0	1 (1, 0, 0)	0	0	0
<i>Noncarcinogen</i>									
2,6-Diaminotoluene	2,6-DAT	5	-	+	0	1 (1, 0, 0)	1 (1, 0)	0	0
6-Mercaptopurine monohydrate	6-MP	5	-	+	0	0	2 (2, 0)	0	0
5-Nitro-o-toluidine	PNOT	5	-	+	0	0	0	0	0
Anthranilic acid	o-AA	5	-	-	0	0	0	0	0
Carboxin (low dose)	CBX (0.04%)	5	-	-	0	5* (3, 2, 0)	1 (1, 0)	0	0
Carboxin (high dose)	CBX (0.2%)	5	+	-	4* (4, 0, 0)	5* (0, 0, 5)	2 (2, 0)	0	0
Ethionamide	ETP	5	-	-	0	0	0	0	0
5-Fluorouracil	5-FU	5	-	-	0	1 (1, 0, 0)	1 (1, 0)	0	0
Fradiomycin sulfate	Neomycin	5	-	-	0	0	0	0	0

* and **: $P < 0.05$ and 0.01 , respectively, vs. corresponding control groups by Fisher's exact test.

±, +, and ++: slight, mild, and moderate, respectively. ^aTotal of 14 separate studies.

厚生労働行政推進調査事業費補助金（化学物質リスク研究事業）

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

令和7年度分担研究報告書

In vitro 腎毒性評価の TG 開発及び実験データ支援

研究分担者 松下 幸平

国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 病理部 第三室長

研究要旨

腎障害が生じた後に尿細管の再生異常が生じた場合、線維化を伴う不可逆的な慢性腎臓病へと移行する。我々はこれまで尿細管の再生異常を **Key Event (KE)** とした腎障害・腎線維化の **AOP** 作製に資するデータを得ることを目的とし、種々の尿細管障害物質を用いて検討を行った。その結果、再生異常の生じた尿細管には **CD44** が発現する可能性を見出し、**CD44** を測定可能なエンドポイントとしての有用性を検証している。本年度は糸球体障害に続発する腎線維化における検証を行うため、糸球体障害物質であるアドリアマイシンによるラット腎線維化モデルの作製条件を検討した。

6 週齢雄性 **SD** ラットにアドリアマイシンを種々の用量で単回あるいは 2 回静脈内投与し、最終投与の 4 週間後に剖検を行い腎臓について解析を行った。その結果、**6 mg/kg** の 2 回投与が最も適切なラット腎線維化モデルの作製条件と考えられた。また尿細管障害物質により作製したラット腎線維化モデルと同様に、線維化病変内の拡張あるいは萎縮した尿細管において **CD44** の発現が認められた。よって、**CD44** は尿細管障害の原因に依らず再生異常尿細管に発現するものと考えられた。

引き続き腎線維化の **AOP** における **CD44** のエンドポイントとしての有用性を検証するとともに、**KE** 設定に資する情報を得るため、アドリアマイシン誘発ラット腎線維化モデルにおける病態形成及び **CD44** 発現を経時的に観察する予定である。

A. 研究目的

腎障害が生じた後に尿細管の再生異常が生じた場合、線維化を伴う不可逆的な慢性腎臓病へと移行する。我々はこれまで尿細管の再生異常を **KE** とした腎障害・腎線維化の **AOP** 作製に資するデータを得ることを目的とし、研究を行ってきた。その一環として、尿細管を標的とする種々の腎毒性物質をラットに投与して線維化モデルを作製し、解析を行った。その結果、各モデルに共通して線維化病変内の尿細管に **CD44** が限局して発現していることを明ら

かにした。よって、腎線維化

Adverse Outcome Pathway (AOP) における **CD44** の測定可能なエンドポイントとしての可能性を見出した。

本研究では引き続き **CD44** の **AOP** におけるエンドポイントとしての汎用性を検証するため、糸球体障害物質の投与によるラット腎線維化モデルを作製し、直接的な尿細管障害を介さない線維化病態における **CD44** の発現を解析した。本年度は代表的な糸球体障害物質であるアドリアマイシンの投与条件の検討を行った。

B. 研究方法

実験①：6週齢の雄性SDラットを5群に配し（n=5）、媒体である生理食塩水もしくはアドリアマイシンを4、6、8及び10 mg/kg 体重（10 mL/kg 体重）の用量で単回静脈内投与した。投与28日後に生存例についてイソフルラン深麻酔下において腹大動脈から採血した後、放血により安楽死させて剖検を行った。剖検時に腎臓を摘出して重量を測定した後、一部を10%中性緩衝ホルマリンにて固定した。得られた血液サンプルを常温下で遠心（3000 rpm、15分）して血清を分離し、尿素窒素（BUN）及びクレアチニン（sCre）の値を測定した。また、10%中性緩衝ホルマリンで固定した腎臓組織を用いて定法に従いパラフィン包埋、薄切し、HE染色を施して病理組織学的検索を行った。

実験②：6週齢の雄性SDラットを5群に配し（n=5）、媒体である生理食塩水もしくはアドリアマイシンを2、4、6及び8 mg/kg 体重（10 mL/kg 体重）の用量で試験開始時及び試験開始2週間後の2回、静脈内投与した。2回目の投与から4週間後に実験①と同様に剖検及び解析を実施した。さらに免疫組織学的解析のため、組織標本を抗原賦活化処置としてクエン酸バッファ（pH6.0）に浸漬してオートクレーブ処置し（121℃、15分）、3% H₂O₂/メタノールにて内因性ペルオキシダーゼを除去した。引き続き、非特異反応を除去するため10%正常ヤギ血清を用いてブロッキング処置を施した後、抗CD44抗体を4℃にて一晩インキュベートし、二次抗体（ポリマー法：ヒストファイニンシンプルステイン）を室温下で30分インキュベートした。ジアミノベンジジンにて反応を可視化し、ヘマトキシリンにより核染色を行った。

統計学的解析として、体重、血液生化学的検査及び腎重量のデータについて一元配置分散分析（ANOVA）を実施した後にDunnett法による多重検定を行った。有意水準は0.05に設定した。

（倫理面への配慮）

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

C. 研究結果

実験①：体重測定の結果を図1Aに示す。実験開始3週時において、最高用量群の10 mg/kg群において一般状態の悪化及び体重減少がみられたため、全例を安楽死させた。その他の群は試験終了時まで生存した。血清生化学的検査では、全投与群において対照群と比較してBUN及びsCreの有意な変動は認められなかった（図1B）。腎重量測定では、6及び8 mg/kg群において相対重量が対照群と比較して有意な高値を示した（図1C）。病理組織学的解析の結果を図2に示す。全群で糸球体における障害性の変化が極軽度から軽度に認められた。6及び8 mg/kg群で尿細管における障害性の変化が軽度に認められたものの、明らかな線維化病変は認められなかった。

実験②：体重測定の結果を図3Aに示す。実験開始4週時において、最高用量群の8 mg/kg群において一般状態の悪化及び体重減少がみられたため、全例を安楽死させた。その他の群は試験終了時まで生存した。血清生化学的検査では、6 mg/kg群においてBUN及びsCreが対照群と比較して有意な高値を示した（図3B）。腎重量測定では、4及び6 mg/kg群において対照群と比較して相対重量の有意な高値を認めた（図3C）。病理組織学的解析の結果を図4

に示す。全群で糸球体における障害性の変化が軽度から中程度に認められた。また4及び6 mg/kg群で尿細管の障害性変化が認められ、線維化病変の形成が4 mg/kg群では軽度に、6 mg/kg群で中程度に認められた。また4及び6 mg/kg群の線維化病変内の尿細管は拡張あるいは萎縮しており、免疫染色にてCD44に陽性を示した。

D. 考察

アドリアマイシンの単回投与実験では、いずれの群においても糸球体病変は認められたものの、最大耐量と考えられる 8 mg/kg 群においても十分な線維化病変は確認されなかった。一方、2 回投与実験においては、全投与群で糸球体病変が認められ、さらに 4 及び 6 mg/kg 群で線維化病変の形成が確認された。線維化病変は 6 mg/kg 群でより顕著であったため、アドリアマイシン誘発ラット線維化モデルの適切な投与条件は 6 mg/kg の 2 回投与と考えられた。

2 回投与実験の 4 及び 6 mg/kg 群の線維化病変内の拡張あるいは萎縮した尿細管に CD44 の発現が認められた。この結果は尿細管障害物質を用いた先行研究の結果と一致していたことから、CD44 は尿細管障害の原因に依らず再生異常尿細管に発現するものと考えられた。

来年度は引き続き、アドリアマイシン 6 mg/kg を 2 回投与したラットにおいて糸球体障害、CD44 発現及び線維化の病態形成を経時的に観察することにより、糸球体障害に続発する腎線維化における尿細管の再生異常と線維化形成の時系列を明らかにし、AOP 作製における KE 設定に資するデータを取得する予定である。

E. 結論

糸球体障害物質であるアドリアマイシンによるラット腎線維化モデルの作製条件を検討し、6 mg/kg の 2 回投与に決定した。引き続き本モデルにおける病態形成を経時的に観察し、腎線維化の AOP 作製に資するデータの取得を目指す。

F. 研究発表

F.1. 論文発表

1. Matsushita K, Akane H, Akagi J, Morikawa T, Mizuta Y, Ogawa K, Toyoda T. Possible involvement of tubular interleukin-34 in macrophage recruitment during colistin-induced nephrotoxicity in rats, J Toxicol Sci. 2026;51:163-172. doi: 10.2131/jts.51.163.

F.2. 学会発表

1. 松下幸平, 豊田武士, 赤根弘敏, 赤木純一, 森川朋美, 水田保子, 小川久美子. 急性腎障害から慢性腎臓病への移行における CD44 の予測指標としての有用性の検証. 第 168 回日本獣医学会 (2025 年 9 月 4 日)
2. 松下幸平. 薬剤性腎障害の可逆性を予測する新規評価系の開発. 第 146 回日本薬学会 (2026 年 3 月 27 日)
3. Matsushita K, Akane H, Akagi J, Morikawa T, Mizuta Y, Ogawa K, Toyoda T. CD44 expression in renal tubules during maladaptive repair in AKI to CKD transition. World Congress of Nephrology 2026 (2026.03.30, Yokohama, Japan)

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
該当なし
2. 実用新案登録
該当なし

3. その他
該当なし

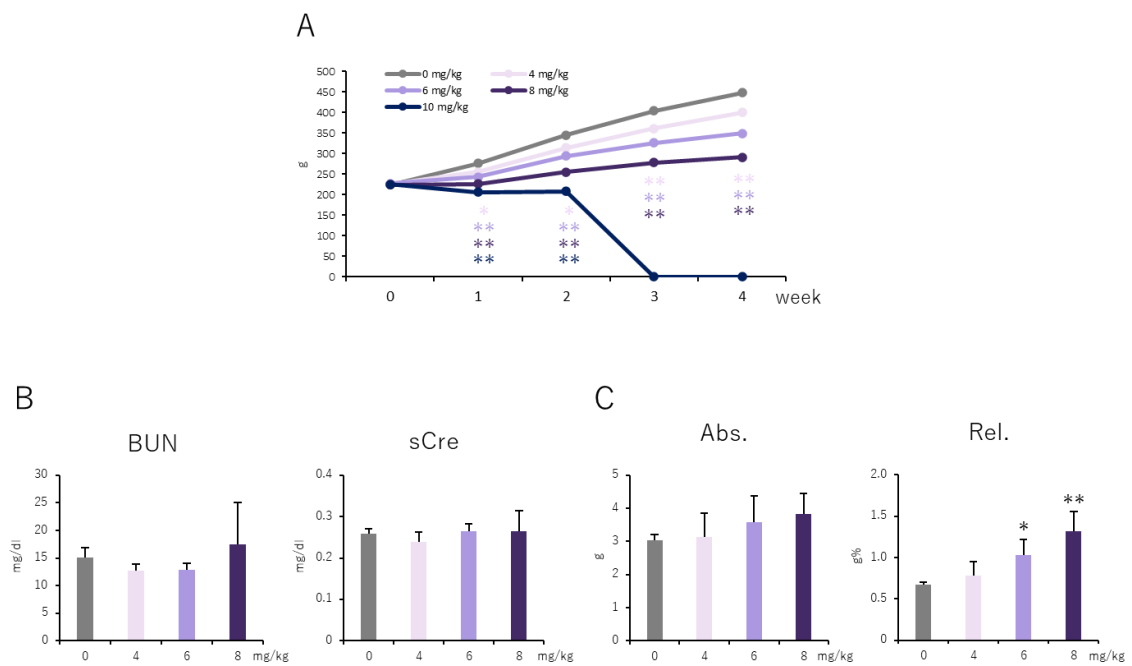


図1. 実験①における体重の推移 (A)、血清生化学的検査 (B) 及び腎重量測定 (C)。
*, **: $p < 0.05, 0.01$ vs. 0 mg/kg。

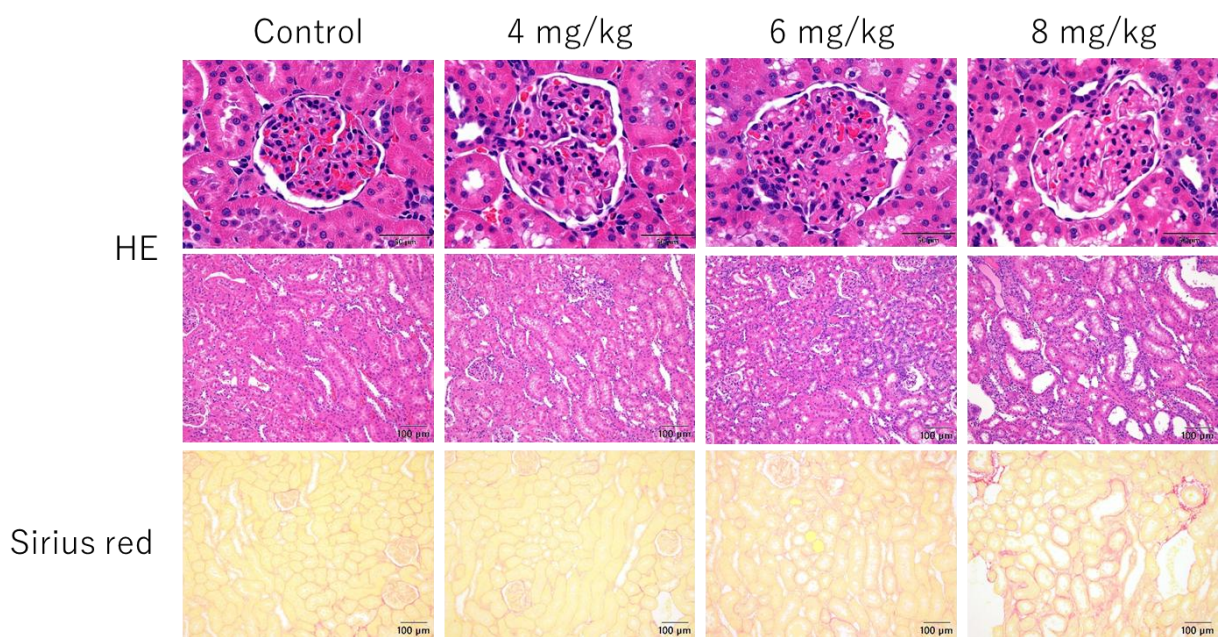


図 2. 実験①における病理組織学的解析。

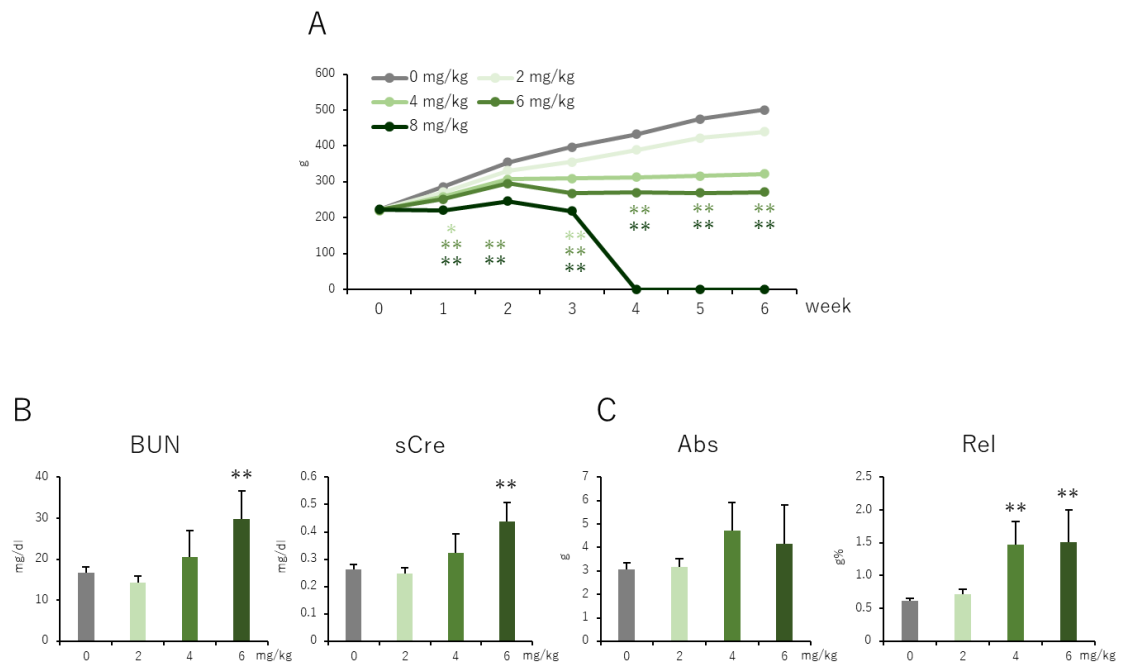


図 3. 実験②における体重の推移 (A)、血清生化学的検査 (B) 及び腎重量測定 (C)。

*, **: $p < 0.05, 0.01$ vs. 0 mg/kg。

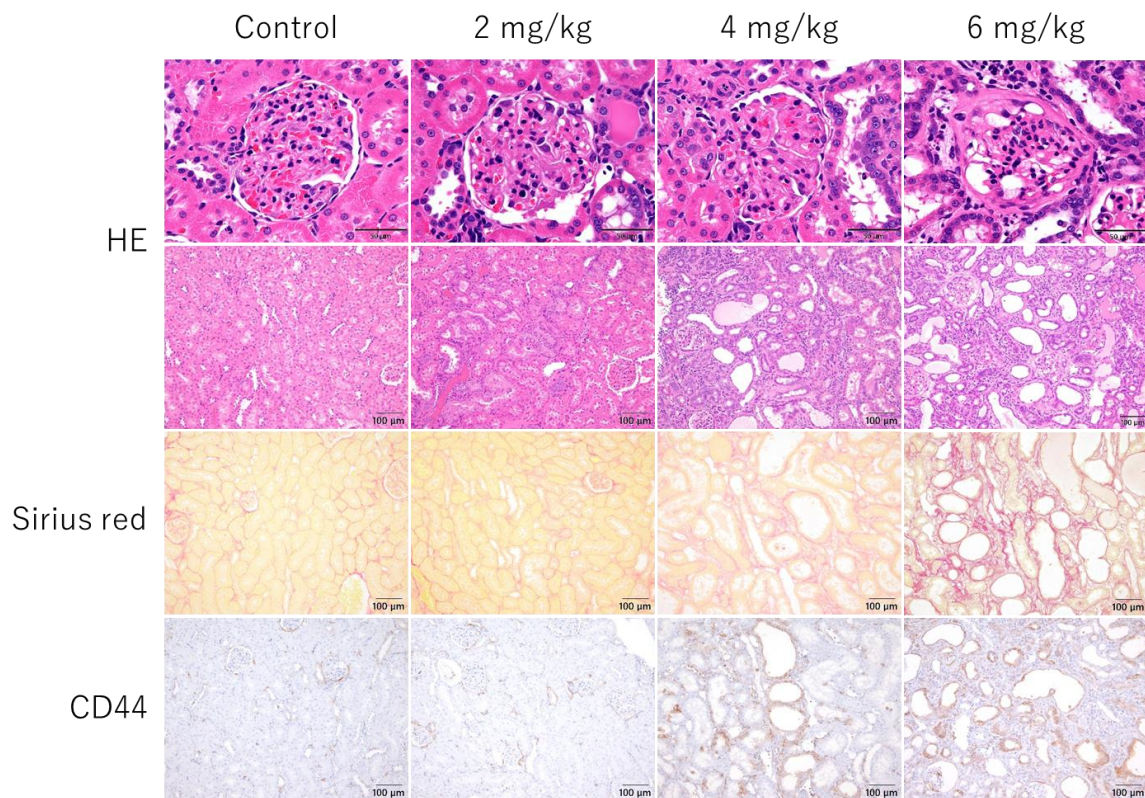


図 4. 実験②における病理組織学的解析。

厚生労働行政推進調査事業費補助金（化学物質リスク研究事業）

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

令和7年度分担研究報告書

化学物質曝露によって誘発される発達神経毒性に関する研究

研究分担者 齊藤 洋克

国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 毒性部 主任研究官

研究要旨

昨今、動物実験を用いずに全身毒性を評価するため、動物実験代替法の枠に捉われない概念として、New Approach Methodology (NAM) の開発が盛んである。本研究班は、このような世界的な動向に呼応して NAM の開発を加速し、新興技術に基づく評価法を公定化させるとともに、他国が提案する OECD 大型プロジェクトに関与し、得られた成果を化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）や毒物及び劇物取締法（毒劇法）などの我が国の厚生労働行政に反映させることを目的とする。個体の発生・発達期は神経シグナルの厳密な制御の下、脳の神経回路網が形成される重要な時期であり、この時期の化学物質の曝露は、正常な脳の発達を妨げ、遅発的かつ長期的な影響をもたらすおそれがある。化学物質がヒトを含む哺乳類の神経系に及ぼす潜在的な影響に関しては、新たな知見が蓄積、更新されているものの、脳高次機能への影響を議論するための情報は十分ではない。そこで本分担研究では、Adverse outcome pathway (AOP) 開発に資する実験データ支援として、発生・発達期のマウスに作用機序の異なる被験物質を投与し、脳高次機能への影響として生じる共通イベント及び影響の差異を検討することで、発達神経毒性に関する実験データの収集を進めている。今年度は、昨年度取得したイミダクロプリドのデータの追加解析及び再整理に加え、作用機序の異なるモデル化学物質としてアセフェート及びフィプロニルを用い、幼若期及び成熟期マウスへの単回強制経口投与後の行動試験結果を含めた3被験物質間の比較検討を行った。観察された行動影響は多様であったが、特に雄のイミダクロプリド及びフィプロニルの幼若期投与群では、作用機序の違いにもかかわらず、明暗往来試験及び条件付け学習記憶試験の双方において行動逸脱が認められた。不安関連行動に共通した変化が認められるとともに、学習・記憶関連行動への影響も両物質に共通して示唆されたことから、共通する影響メカニズムの存在が考えられた。

A. 研究目的

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

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

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

B. 研究方法

今年度は、予備検討で得られた実験条件を踏まえ、昨年度に実施したイミダクロプリドの行動試験結果について追加解析及び再整理を行うとともに、作用機序の異なる被験物質としてアセフェート及びフィプロニルを選択し、幼若期（2 週齢）及び成熟期（10 週齢）の C57BL/6N マウスへの単回強制経口投与後に得られたデータを総合的に比較検討した。被験物質 3 種の投与用量はそれぞれイミダクロプリド 8mg/kg、アセフェート 50mg/kg、フィプロニル 20mg/kg とし、既存知見に基づき、重篤な末梢神経症状（運動失調、麻痺等）を呈する用量域を避けて設定した。被験物質投与後、12～14 週齢時における行動への影響を評価するため、自発運動量、情動行動、学習記憶能及び情報処理機能に着目した行動試験を実施した。具体的には、オープンフィールド試験、明暗往来試験、条件付け学習記憶試験及びプレパルス驚愕反応抑制試験を行った。オープンフィールド試験では、新奇環境下における活動量及び不安関連行動を評価した。明暗往来試験では、明室と暗室の 2 区画における移動距離や滞在時間を指標として、不安関連行動を評価

した。条件付け学習記憶試験では、音刺激と床からの電気刺激を組み合わせた条件付けを行い、学習・記憶能を評価した。評価指標には、すくみ行動（フリージング）を用いた。プレパルス驚愕反応抑制試験では、先行する弱い音刺激（プレパルス）によって、その後の強い音刺激（パルス）に対する驚愕反応が減弱する現象を利用して、情報処理機能を評価した。

（倫理面への配慮）

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

C. 研究結果

行動試験の結果、雄のイミダクロプリド幼若期投与群では、対照群と比較して、オープンフィールド試験、明暗往来試験及び条件付け学習記憶試験において有意な行動変化が認められた。一方、成熟期投与群では、各行動指標に有意な変化は認められなかった。これらの所見は、衝動性、不安の亢進及び学習・記憶能の逸脱を示唆するものであり、複数の行動特性に影響が及ぶ可能性が示された。雌のアセフェート幼若期投与群では、明暗往来試験において不安関連行動の変化が認められた。雄のフィプロニル幼若期投与群においても、明暗往来試験における不安関連行動の変化に加え、条件付け学習記憶試験において学習・記憶指標の逸脱を示唆する所見が認められた。なお、フィプロニルでは雌雄の成熟期投与群においても顕著な行動影響が認められたが、その影響は幼若期投与群とは質的に異なっていた。さらに、各被験物質の幼若期投与群では、明暗往来試験において、明

室移動距離、明室滞在時間及び明暗往来数の減少、ならびに暗室待機時間（明室への初移動までの時間）の増加が共通して認められ、不安関連指標として整合的な変化が示された。

D. 考察

行動試験の結果から、生後発達期への化学物質曝露は、成熟期曝露とは質的に異なる中枢神経系影響をもたらし、成熟後に行動毒性として顕在化する可能性が示された。観察された行動影響は多様であったが、特に、雄のイミダクロプリド及びフィプロニルの幼若期投与群では、作用機序の違いにもかかわらず、明暗往来試験及び条件付け学習記憶試験の双方において行動逸脱が認められた。不安関連行動に共通した変化が認められるとともに、学習・記憶関連行動への影響も両物質に共通して示唆されたことから、共通する影響メカニズムの存在が考えられた。現在、成熟後脳の部位別遺伝子発現解析及び免疫組織化学的解析を進め、行動影響と関連する変化を探索している。今後は、曝露直後の変化もあわせて検討することで、成熟後の行動変化に至る過程の解明を進めるとともに、イミダクロプリド及びフィプロニルを優先的に解析し、成熟後脳で得られたシグナルネットワーク情報をもとに、影響を受ける脳領域を絞り込む予定である。

E. 結論

本研究で得られた知見は、発達神経毒性の評価における *in vitro* 試験法の適用範囲や限界を検討する上で重要な基礎データとなり、発達神経毒性に至る過程を AOP の枠組みの中で整理し、各段階に対応する指標やエンドポイントを明確化するための基盤となるものである。最終的には、本研究

を通じて蓄積される実験データに基づき、各キーイベントに対応した NAM の開発及び活用の推進につながることが期待される。本研究で得られる知見は、国内外で開発・提案される NAM について、その科学的妥当性や行政的受容性の観点から検討・評価を行う際にも有益であると考えられ、引き続き、発達神経毒性の AOP 作成に資する実験データを蓄積する必要がある。

F. 研究発表

F.1. 論文発表

1. Saito H, Suga K, Fujihara K, Mutsuga M, Yokota S, Nishimura T, Kitajima S. Exposure to xylene early in life induces memory abnormalities of adult male mice. *Exp. Anim.* 2026; 75(2): 222-233.

F.2 学会発表

1. 齊藤洋克, 菅康佑, 藤原恒司, 六鹿元雄, 横田理, 西村拓也, 北嶋 聡: 生後発達期のキシレン曝露による成熟後雄マウスの行動影響解析, 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025.7.3, 沖縄)

G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得

該当なし

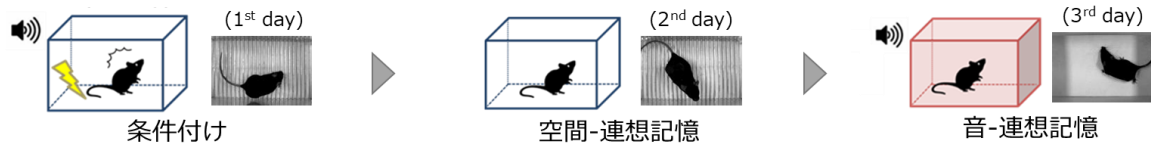
2. 実用新案登録

該当なし

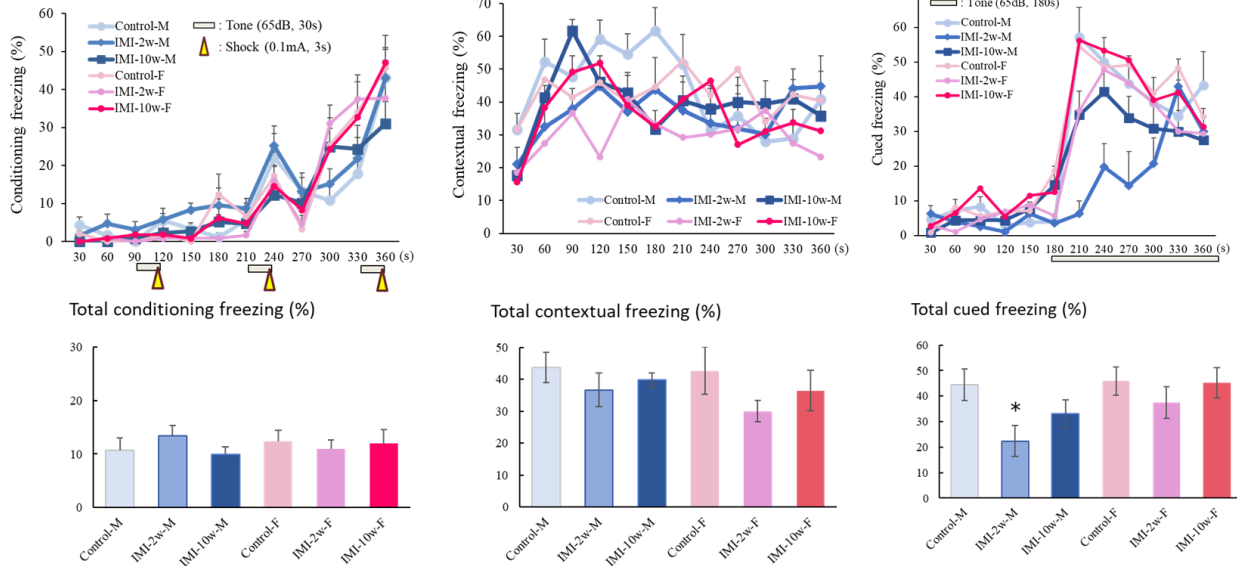
3. その他

該当なし

条件付け学習記憶試験



【イミダクロプリド】



【フィプロニル】

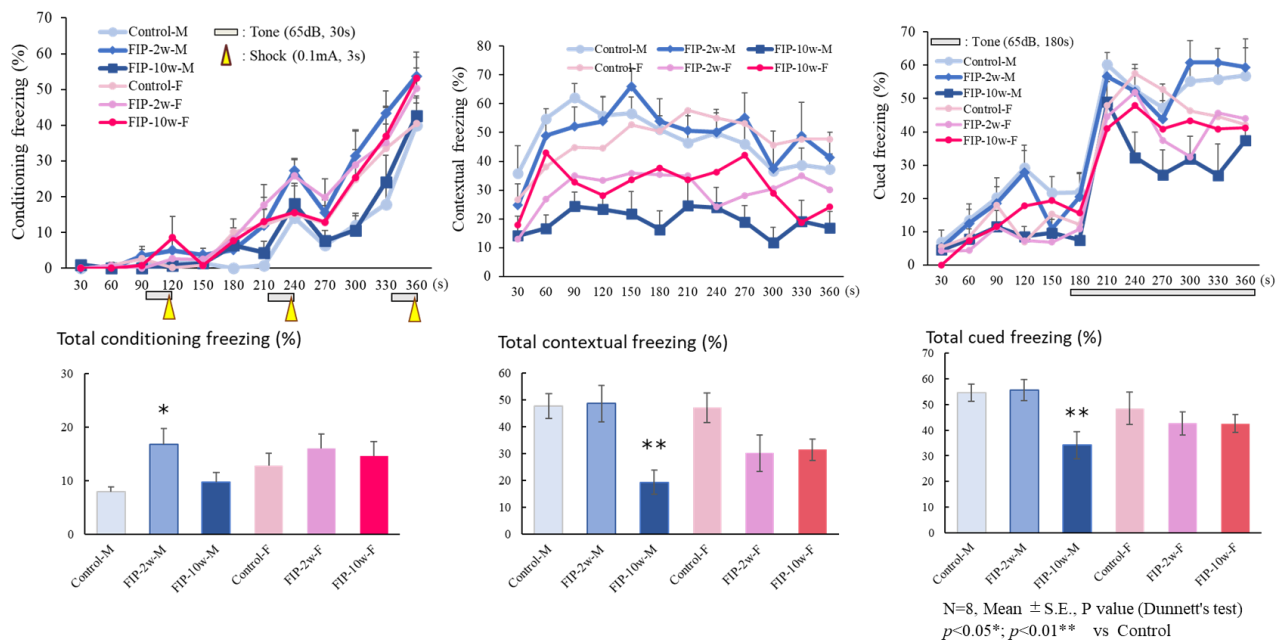
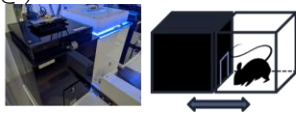


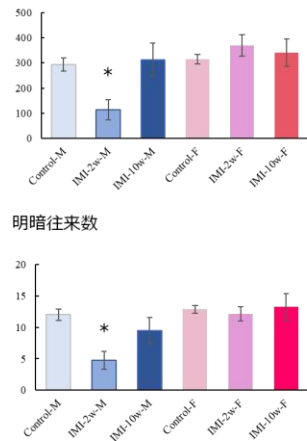
図 1. 共通した行動影響が比較的多く認められたイミダクロプリド及びフィプロニルにおける行動試験結果の代表例

図1 (続き)
明暗往来試験

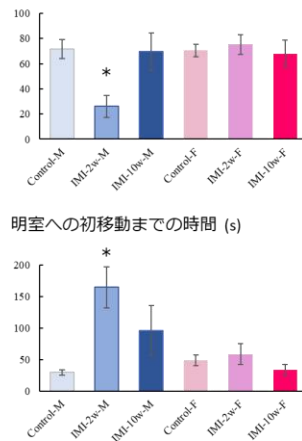


【イミダクロプリド】

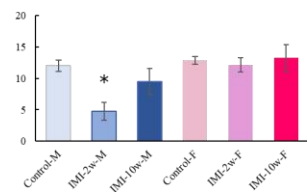
明室移動距離 (cm)



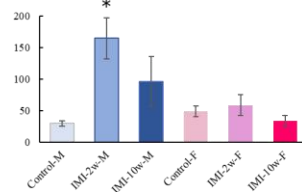
明室滞在時間 (s)



明暗往来数

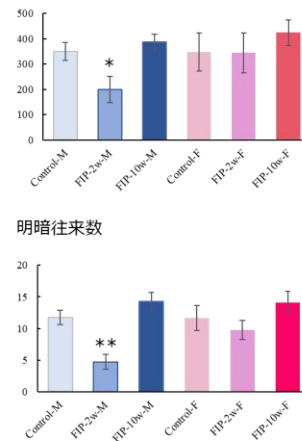


明室への初移動までの時間 (s)

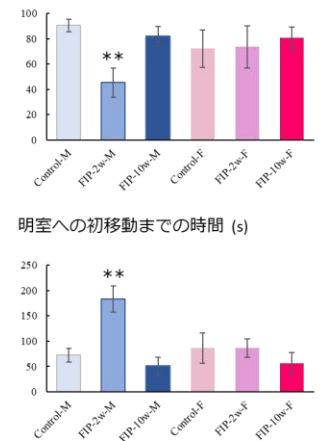


【フィプロニル】

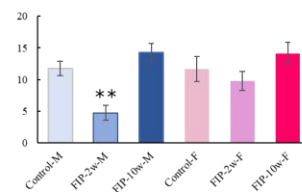
明室移動距離 (cm)



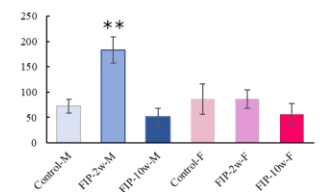
明室滞在時間 (s)



明暗往来数



明室への初移動までの時間 (s)



N=8, Mean ± S.E., P value (Dunnett's test)
p<0.05*, p<0.01** vs Control

	イミダクロプリド (被験物質 1)				アセフェート (被験物質 2)				フィプロニル (被験物質 3)			
	♂		♀		♂		♀		♂		♀	
体重	生後発達期	成熟期	生後発達期	成熟期	生後発達期	成熟期	生後発達期	成熟期	生後発達期	成熟期	生後発達期	成熟期
	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
・オープンフィールド試験												
総移動距離	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	↑
中央滞在時間	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
移動速度	↑	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	↑
移動回数	↓	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	↓	n.s.	n.s.	n.s.	↓↓
・明暗往来試験												
明室移動距離	↓	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	↓	n.s.	↓	n.s.	n.s.	n.s.
明室滞在時間	↓	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	↓	n.s.	↓↓	n.s.	n.s.	n.s.
明暗往来数	↓	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	↓	n.s.	↓↓	n.s.	n.s.	n.s.
明室への初移動までの時間	↑	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	↑	n.s.	↑↑	n.s.	n.s.	n.s.
・条件付け学習記憶試験												
学習度	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	↑	n.s.	n.s.	n.s.
空間一連想記憶	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	↓↓	n.s.	n.s.
音一連想記憶	↓	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	↓↓	n.s.	n.s.
・プレパルス驚愕反応抑制試験												
驚愕反応抑制率 (100/120dB)	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
驚愕反応抑制率 (105/120dB)	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.

↑、↓ : 有意 ($p < 0.05$)
↑↑、↓↓ : 有意 ($p < 0.01$)
n.s. : 有意差なし

図 2. 各被験物質における行動試験結果の比較

N=8, P value (Dunnett's test)
p<0.05*, p<0.01** vs Control

厚生労働行政推進調査事業費補助金（化学物質リスク研究事業）

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

令和7年度分担研究報告書

皮膚感作性*in silico*機械学習モデルのTG 開発

研究分担者 安部 賀央里

名古屋市立大学データサイエンス研究科 准教授

研究要旨

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

研究協力者

足利 太可雄 国立医薬品食品衛生研究所
安全性生物試験研究センター ゲノム安全
科学部 室長

佐竹 里野 名古屋市立大学大学院薬学研
究科 レギュラトリーサイエンス分野

A. 研究目的

皮膚感作性とは、化学物質等により接触性皮膚炎を引き起こす毒性のことであり、化学物質の安全性評価において重要なエンドポイントの一つである。従来、皮膚感作性はマウスを用いた *in vivo* 試験である局所

リンパ節試験 (Local Lymph Node Assay: LLNA) 等で評価され、皮膚感作性を成立させる化学物質の閾値濃度である EC3 値をもとに定量的な評価が検討されている。しかし、近年、動物実験に依存しない毒性評価として、New Approach Methodology (NAM) の開発が着目されている。また、経済協力開発機構 (OECD) では、有害性発現経路 (Adverse Outcome Pathway: AOP)に基づいて *in vitro*、*in silico*、*in vivo* の情報を組み合わせて化学物質の有害性を評価する試験と評価のための統合的アプローチ (integrated approaches to testing and

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

B. 研究方法

これまでに、名古屋市立大学と国立医薬品食品衛生研究所の足利太可雄にて開発した、皮膚感作性の強度指標であるマウスの LLNA EC3 値の定量的な予測モデル (Ambe et al., Regul Toxicol Pharmacol 125, 105019 (2021)) を改良した。具体的には、皮膚感作性を対象として機械学習による予測モデルの実用化や規制安全性評価への受け入れに向けて、適用領域の設定や外部検証を実施した。また、モデルの解釈性・説明性を目指し、モデル作成に用い

た説明変数の重要度の指標である SHAP (SHapley Additive exPlanations) 値を算出し予測結果の判断根拠を示した。学習データには皮膚感作性の組み合わせ評価のためのガイドライン (DASS, OECD GL497, 2021) に掲載されている化学物質のデータを用いた。予測モデルは機械学習を用いて決定木系アルゴリズムである XGBoost による回帰モデルを構築し、GHS 区分を行った。本モデルについて国際英文誌への投稿と QMRF 作成を開始した。また、さらなる予測モデルの性能向上や精緻化を目指し、SARA-ICE モデルの学習データを追加し、モデルの改良を開始した。

(倫理面への配慮)

二次データを使用するため該当無し。

C. 研究結果

モデル構築および内部検証用データとして皮膚感作性の組み合わせ評価のためのガイドライン (DASS, OECD GL497, 2021) に記載されているリストから154物質、外部検証用データとして欧州化粧品工業会により公開された文献 (Hoffmann, 2022) から72物質のLLNA試験結果情報を使用した。LLNA EC3値を目的変数とし、決定木系アルゴリズムであるXGBoostによる回帰モデルを構築した。説明変数には、皮膚感作性の発症メカニズムに対応する3種類の*in vitro*試験結果 (DPRA、KeratinoSensTM、h-CLAT)、OECD QSAR ToolBoxやOPERAから算出した分子記述子、構造アラート情報から21個の変数を使用した。モデルの適用領域は、説明変数

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

また、モデルの予測性能を比較するために、外部検証用データに対して、安部らが2021年に構築したCatBoostモデル (Ambe et al., Regul Toxicol Pharmacol 125, 105019 (2021)) や、資生堂のANNモデル (Hirota, et al., J. Appl. Toxicol., 35, 1333-1347 (2015)) を用いて予測を行った。予測値が実測値の1/5倍から5倍の範囲内にある物質の割合を算出したところ、本DASSモデルで36.1%、CatBoostモデルで44.4%、ANNモデルで33.3%となった。

3つのモデル間で性能に大きな差はなかったことから、DASSモデルは既存の皮膚感作性強度指標を定量的に予測する機械学習モデルと比較し、予測性能が同等であることが示された。

次に、本DASS回帰モデル (XGBoostRegressor) にて算出されたLLNA EC3予測値を用いてGHS区分を実施した。3種類のin vitro試験が2つ以上陽性と判断された物質については、決定木系アルゴリズムであるXGBoostによりLLNA EC3値を算出し、予測値が2%以下であればGHS 1A、予測値が2%より大きければGHS 1Bと判定される。一方で、in vitro試験が2つ以上陰性と判断された物質は皮膚感作性陰性とした。その結果、in vitro試験が2つ以上陽性と判断された81物質のGHS区分の一致率は79.0%、過大評価は13.6%、過小評価は7.4%であった。また、in vitro試験が2つ以上陰性と判断された58物質については、LLNAの試験結果との一致率が51.7%であった。

さらに、DASS GL497に収載されたSARA-ICEモデルに使用されている物質の中で、本モデルの学習データに追加可能な物質は48個であった。これらを追加して再学習した予測モデルでは、追加前のモデルと比較して、内部検証の結果は大きな改善は見られなかったものの、外部検証では過小評価が改善された。現在、予測性能の安定を目指しパラメータ調整やデータ分布の確認を進めている。

D. 考察

SHAP値を用いた解析により、各特徴量の重要度および予測への寄与方向を可視化で

き、本モデルの判断根拠を明確に示すことが可能となった。これにより、モデルの解釈性が向上した。皮膚感作性強度の予測において、AOPに関連するin vitro試験情報を組み込むことは、予測性能および解釈性の向上に寄与することが示唆された。

また、他の既存モデルとの比較において、本DASSモデルは予測性能に大きな差がないことが確認されたうえで、適用領域の設定、外部検証による汎化性能の評価、さらにSHAPによる視覚的な判断根拠の提示を実装している点で優位性を有すると考えられる。これらの点は、規制評価での利用を想定した定量的皮膚感作性強度予測モデルとしての有用性を高めるものである。

さらに、本モデルの有用性を検証するため、OECD TG497に追加された SARA-ICE モデルとの性能比較を継続して実施している。また、本モデルに関する論文 (Ambe *et al.*, ExSERA: The Explainable Machine Learning Model for Skin Sensitization Risk Assessment, RTP) の内容を基に、OECD Series on Testing and Assessment, No.386 (2023)に準拠したQMRfの作成準備を進める。

健康危険情報

該当なし

E. 結論

皮膚感作性の発症メカニズムに基づく、解釈性の高い、皮膚感作性in silico機械学習モデルが構築できたと考えられる。本モデルは機械学習を活用したin silico NAMとし

て行政利用に向けた検討が期待できる。

F. 研究発表

F.1. 論文発表

1. Ambe K., Kinoshita K, Tokunaga J, Satake R, Murasaki W, Tohkin M, Yamada T, Ashikaga T. ExSERA: The Explainable Machine Learning Model for Skin Sensitization Risk Assessment. Regulatory Toxicology and Pharmacology. 2026;169:106100.
2. Ambe K. Development of a Data-Driven Prediction Model of Adverse Drug Reactions Using Large-Scale Medical Information and Machine Learning. Biological and Pharmaceutical Bulletin. 2026; 49(2) 213-219.

F.2 学会発表

招待講演

1. 安部賀央里. New Approach Methodologies (NAMs)を活用した皮膚感作性強度予測に向けた機械学習モデルの開発. シンポジウム産官学：医薬品安全性研究におけるレギュラトリーサイエンスを再考する. 日本薬学会第 146 年会 (2026.3.27, 大阪)
2. 安部賀央里. 安全性評価におけるデータサイエンスの活用. ロボット・AI・ビッグデータ 創薬シンポジウム (2025.5.10, 名古屋)

一般発表

1. Satake R, Tokunaga J, Kinoshita K, Iwasa H, Hatano K, Nakamura N, Arakawa H, Yamada T, Ashikaga T., Ambe K. Next Generation Risk Assessment Case Study: A Quantitative Machine Learning Approach for Skin Sensitization in Oxidative Hair

Dyes. 65th Annual Meeting of the Society of Toxicology (2026.3.22, USA)

2. 佐竹里野, 徳永朱莉, 木下啓, 岩佐帆乃夏, 波多野浩太, 中村伸昭, 足利太可雄, 安部賀央里. Next Generation Risk Assessment 事例研究: 酸化染料を用いた定量的皮膚感作性リスク評価. 日本動物実験代替法学会 第38回大会 (2025.11.3, 横浜)
3. 佐竹里野, 徳永朱莉, 木下啓, 岩佐帆乃夏, 波多野浩太, 中村伸昭, 足利太可雄, 安部賀央里. Development of machine learning models for predicting skin sensitization intensity - Use of the amino acid derivative binding test ADRA-. 第53回日本毒性学会学術年会(2025.7.2, 沖縄)

G. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

厚生労働行政推進調査事業費補助金（化学物質リスク研究事業）

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

令和7年度分担研究報告書

バリデーション基準の改定対応および皮膚感作性試験のTG開発

研究分担者 足利太可雄

国立医薬品食品衛生研究所・安全性生物試験研究センター・ゲノム安全科学部・第四室長

研究要旨

バリデーション基準の改定対応については、OECD で進むバリデーション基準に関するガイダンス（GD34）の改定に関するプロジェクトグループ会議に出席し、提案された部分的なドラフト文章及び付属資料について意見交換を行った。皮膚感作性試験のテストガイドライン(TG)開発については、2026年度の承認を目指して α -Sens のドラフト TG を提出し、専門家会議での議論を開始した。またこれまで日本で開発された皮膚感作性試験代替法 EpiSensA, ADRA および IL-8 Luc assay が TG497 (Defined Approach Skin Sensitization) に追加収載されるように必要な情報を提出した結果、これらの代替法が 2025 年 6 月に GL497 に追加収載された。また EpiSensA と *in silico* の組み合わせを TG497 に追記するため、OECD 専門家会議において議論した。さらに新規表皮モデルを用いた Epi2SensA を TG442D に追加することを目指し、バリデーション報告書、peer review 報告書及び TG 案を作成した。

A. 研究目的

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

NAMに用いる新興技術の公定化のためのバリデーションを加速するための基準や仕組みの改定を促している。

本研究では、OECD のバリデーションのあり方に関する GD34 の改定に取り組むとともに、日本で開発された皮膚感作性試験代替法またはその me-too 試験法が OECD TG として採択させることを目的とした。

B. 研究方法

1) 平林、研究分担者足利及び小島は、これまで日本で開発された皮膚感作性試験代替法 EpiSensA, ADRA および IL-8 Luc assay が TG497 (Defined

Approach Skin Sensitization) に追加収載されるよう尽力した。また、TG497 に *in silico* モデルの追加収載に関する WNT の議論にも参加した。

- 2) 研究分担者の足利及び小島は、研究協力者の赤堀有実 (CERI) 及び小野敦 (岡山大学) らとともに、TG442D に追加することを目指し、皮膚感作性試験代替法 α -SENS のバリデーション報告書、peer review 報告書及び TG 案を作成した。
- 3) 研究分担者の足利及び小島は、研究協力者の立花滋博 (食品薬品安全センター) らとともに、新規表皮モデルを用いた Epi2SensA を TG442D に追加することを目指し、バリデーション報告書、peer review 報告書及び TG 案を作成した。
- 4) 研究分担者足利及び小島は、研究協力者の里田裕紀 (花王) らとともに、EpiSensA と *in silico* の組み合わせを TG497 に追記するため、OECD 専門家会議において議論した。
- 5) 研究分担者の足利は、OECD で進むバリデーション基準に関するガイダンス (GD34) の改定について OECD で開催されたプロジェクトグループ会議に出席し、提案された部分的なドラフト文章及び付属資料について意見交換を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は文章案作成やデータ解析のみのため、倫理面の問題はない。

C. 研究結果

1. 皮膚感作性試験代替法の開発について

- 1) 2025 年の WNT 会議にて、EpiSensA, ADRA 及び IL-8 Luc assay が GL497

(DASS) に追加収載されることが決まり、6月にOECDにて公開された。なお、*in silico*モデルのTG497への収載は議論が継続中である。

- 2) 新規皮膚感作性試験代替法 α -SENS のバリデーション報告書、peer review 報告書及び TG 案を OECD に 2025 年 11 月に提出し、専門家会議での検討を行った。バリデーション結果は計画通りであり、TG に支障となる問題点は指摘されていない。
- 3) 新規表皮モデル EpiDerm を用いた Epi2SensA のバリデーション報告書、peer review 報告書及び TG 案を OECD に 2025 年 11 月に提出した。バリデーションの結果、EpiSensA の予測モデルでは再現性に欠けた。Epi2SensA の結果に合わせた細胞生存率 (60% : EpiSensA は 80%)、4 遺伝子の内、2 遺伝子が基準を超えた場合が陽性 (EpiSensA は 1 遺伝子) と緩やかな陽性範囲とした場合、バリデーションの受け入れ基準を満たした。
- 4) EpiSensA と *in silico* 予測モデルの組み合わせに関しては、従来のタンパク結合性と樹状細胞活性化という 2 つの *in vitro* 試験のエンドポイントに代わり、角化細胞活性化のみになったことから、専門家の間で懸念が生じおり、現在は追加検証を行っている。

2. GD34改定について

GD34の改定については、2025年12月4、5日にOECDで行われたプロジェクトグループ会議に出席し、特に全身毒性評価に関するNAMに対応するバリデーションのあり方について議論を行った。まず共通認識として、皮膚刺激性など従来の局所毒性の試験法のバリデーション研究よりも、柔軟で効率化されたプロセスが必要であるこ

とが再確認された。それを実現するために、従来のプレバリデーションから事前評価 (readiness criteria)へ移行することが必要とされた。事前評価のプロセスとは、あらかじめ確認事項が定められた定型フォーマットに、試験法開発者が生物学的妥当性、プロトコルの有無、再現性、予測性などに関する情報を記載し、専門家による事前評価の成績によってバリデーションを簡素化または省略可能とするものである。柔軟で効率的なバリデーションのあり方については、参加施設数や被験物質の削減が検討されたが、効率性と厳密性を両立させることはやはり難しく、バリデーションプロセス自体に大きな変化はない見通しである。事前評価を厳格化することで、バリデーションに入る前に技術移転性確認、プロトコル改定、及び適用限界の明確化が達成されていることが確認できれば、バリデーションの大幅な効率化が実現できると考えられる一方、試験法開発者の負担が増えることも懸念された。またpeer reviewのあり方についても、開発者から報酬を受け取る独立コンサルタントによって行われる場合を想定し、開発者とpeer reviewerの独立性をどのように担保するのかが議論された。またOECD自身がpeer reviewを運営し、各国のコーディネーターに専門家の指名を求める場合、専門家グループは当該バリデーション研究に関与するべきではないことが明記される見通しとなった。さらに、従来のように個別の試験法をバリデーションした後にDefined approach (DA)により統合するのではなく、まずDAを開発・バリデーションした後に個別の試験法バリデーションを経ずに当てはめる方式や、*in silico*モデルの事前評価のテンプレートも今後作成することとなった。

D. 考察

1. 皮膚感作性試験代替法の開発について
ADRA, EpiSensA, IL-8 Luc assay についてはGL497に収載され、日本で開発されたこれらのガイドラインの活用の加速が期待される。一方 *in silico* の行政活用については十分な議論が行われたとは言い難く、今後の課題と考えられる。

2. GD34改定について

やはり効率性と厳密性を両立させることは難しく、バリデーション研究自体に大きな変化はない。バリデーションに入る前にしっかり準備・評価することが結局は最大の効率化

今後 *me-too* のバリデーション研究や *peer review* は独立のコンサルタントが主流になると予想

一方、複雑な毒性評価に必要な DA や *in silico* のバリデーションの進め方については不透明の状況で、議論は長引くと予想された。

E. 結論

2025 年の WNT 会議にて、皮膚感作性試験代替法 EpiSensA, ADRA 及び IL-8 Luc assay が TG497 に追加収載された。

F. 研究発表

F.1. 論文発表

1. Ambe K, Kinoshita K, Tokunaga J, Satake R, Murasaki W, Tohkin M, Yamada T, Ashikaga T. ExSERA: The Explainable Machine Learning Model for Skin Sensitization Risk Assessment. Regulatory Toxicology and Pharmacology. 2026;169:106100.

F.2. 学会発表

1. Ashikaga T. NAMs development in Japan: Past, Present and Future, International Workshop on the Standardization and Validation of Advanced Alternative Testing Methods (2025.4.29, Juju, Korea)
2. 佐竹里野, 徳永朱莉, 木下啓, 岩佐帆乃夏, 波多野浩太, 中村伸昭, 足利太可雄, 安部賀央里. Development of machine learning models for predicting skin sensitization intensity - Use of the amino acid derivative binding test ADRA-. 第 53 回日本毒性学会学術年会 (2025.7.2, 沖縄)
3. 森華奈子, 足利太可雄, 小野美都穂, 江畑知憲, 杉本航, 田中利男, 平田普三, 小島肇. ゼブラフィッシュを用いた発生毒性試験代替法の現状及び動向, 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025.7.3, 沖縄)
4. Ashikaga T. Development of IATA for respiratory sensitization based on the AOP and the status of DRP development in OECD, RIFM Respiratory Research Workshop (2025.7.15, Mahwah, NJ, USA)
5. Ashikaga T. Development and regulatory acceptance of NAMs in Japan: Current status and future, 13th World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences (WC13) (2025.9.3, Rio De Janeiro, Brazil)
6. 小池英子, 足利太可雄. *In vitro* 呼吸器感作性試験の行政活用における国際動向と JaCVAM の取り組み, 第 32 回日本免疫毒性学会学術年会 (2025.9.5, 岐阜)
7. 青島萌乃歌, 松村一史, 田邊郁也, 石川晋吉, 溝口出, 善本隆之, 足利太可雄. 化学物質の *in vitro* 呼吸器感作性評価における再構成ヒト気管支上皮の活用, 第 32 回日本免疫毒性学会学術年会 (2025.9.5, 岐阜)
8. 山崎大樹, 木村啓志, 足利太可雄, 堀武志, 佐藤薫, 最上由香里, 石田誠一. 生体模倣システム (MPS) の行政的利用の推進戦略と評価法構築での考慮事項, 第 15 回 レギュラトリーサイエンス学会学術大会 (2025.9.6, 東京)
9. 足利太可雄. 化粧品・医薬部外品の安全性評価における代替法の開発動向—局所毒性を中心に—, 日本動物実験代替法学会 第 38 回大会 (2025.11.3, 横浜)
10. 足利太可雄. 化粧品における NAMs 技術の受け入れ状況とこれから —全身毒性を中心に—, 日本動物実験代替法学会 第 38 回大会 (2025.11.3, 横浜)
11. 佐竹里野, 徳永朱莉, 木下啓, 岩佐帆乃夏, 波多野浩太, 中村伸昭, 足利太可雄, 安部賀央里. Next Generation Risk Assessment 事例研究: 酸化染料を用いた定量的皮膚感作性リスク評価. 日本動物実験代替法学会 第 38 回大会 (2025.11.3, 横浜)
12. Ashikaga T., Mizoguchi I, Yoshimoto T. Development of Integrated Approaches to Testing and Assessment for respiratory sensitization based on the AOP, International Conference on Stem Cell and Organoid Biology (ICSCOB-25) (2025.11.25-26, Oslo, Norway)
13. Satake R, Tokunaga J, Kinoshita K, Iwasa H, Hatano K, Nakamura N, Arakawa H, Yamada T, Ashikaga T., Ambe K. Next Generation Risk Assessment Case Study: A Quantitative Machine Learning Approach for Skin Sensitization in Oxidative Hair Dyes. 65th Annual Meeting of the Society

of Toxicology (2026.3.22, USA)

14. Pellevoisin C, Kojima H, Hoffmann S, Ashikaga T, Landry T, Romero C, Guntur K, Klausner M, Stadnicki J, Gehrke H, Mills-Goodlet R, Panousi N, Johnson V. J, Narita K, Tachibana S, Kojima K, Armento A. Me-Too Validation of the Epi2SensA Method Using EpiDerm Model for Skin Sensitization Testing Under OECD TG442D, 65th SOT (2026.3.25, Sandiego, USA)

G. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし

厚生労働行政推進調査事業費補助金（化学物質リスク研究事業）

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

令和7年度分担研究報告書

Bhas42細胞形質転換試験法のTG開発

研究分担者 大森清美
神奈川県衛生研究所 理化学部 主任研究員

研究要旨

Bhas42 細胞形質転換試験法（Bhas 42 CTA）は、2016 年に OECD において GD231 として認定された化学物質の非遺伝毒性発がん性（NGTxC）を検出可能な試験法である。OECD では、NGTxC の検出を目的とした IATA（OECD NGTxC・IATA）の開発が 2016 年から行われており、Bhas42CTA は NGTxC・IATA の構成アッセイとしてランク A の評価を受けている。2024 年度（令和 6 年度）に NGTxC・IATA の支援を受け作成し、厚生労働省から OECD に提出した Bhas42CTA の TG プロジェクトの SPSF は、2025 年（令和 7 年）4 月の WNT 会議において承認された。令和 7 年度は TG プロジェクトの第一のステップである Bhas 42CTA の作用機構の Review 作成に向けて、既報のメカニズム解析論文を収集し分析するとともに、新たなメカニズム解析論文を追加した。

A. 研究目的

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

B. 研究方法

OECD では、OECD 非遺伝毒性専門家会議（NGTxC）IATA の開発が 2016 年から行われている。NGTxC では作用機構（MoA）の議論に基づき IATA 構築の方針が国際合意され、2020 年は Expert working group として Review 論文を公表している。このグループの支持を得て、Bhas42 アッセイの SPSF を OECD に提出した。令和 7 年 4 月の WNT 会議において SPSF は承認されたが TG 作成前に Review を実施し、Bhas 42 CTA の作用機構を明確にすることが条件とされた。そこで、Bhas 42 CTA のメカニズムデータを含む論文を収集し、メカニズムの概要リストを作成した。

なお、当研究は、倫理審査および COI の指導・管理に該当しない。

C. 研究結果

2026年4月のWNT会議においてSPSFは承認され、TG作成前に作用機構のReviewを提出し、Bhas 42CTAの作用機構を明確にすることが条件とされた。

Review作成に向けたBhas 42 CTAのメカニズムデータを含む論文の収集では、既報の9報中5報はオミックス解析の論文であった。これらに加えて、典型的なNGTxCであり、OECDにおける発がん性に関わるin vitro試験の中でBhas 42 CTAでのみ陽性検出が可能なPFOAについて、Bhas42CTAにおける経時的なトランスクリプトーム解析によるメカニズム論文を公表し、メカニズムの概要リストに追加した。

D. 考察

Bhas 42 CTAのメカニズムデータを含む論文を含む論文は、2017年以降報告されており、オミックス解析の論文ではメチローム、トランスクリプトーム、プロテオーム解析が行われている。その中でも、経時的なオミックス解析は未だ限られていることから、今後、更にNGTxCでの経時的なオミックス解析論文を追加し、Bhas 42CTAにおける多様なメカニズムを作用機構のReviewに含める。

E. 結論

Bhas42CTAのTGプロジェクトのSPSFは、WNT会議において承認されたことから、第一のステップであるBhas 42CTAの作用機構のReviewの作成に向けて、既報のメカニズム解析論文を収集及び分析しBhas 42CTAのメカニズム概要リストを作成するとともに、典型的なNGTxCであるPFOAの経時的オミックス解析によるメカニズム論文を追加した。今後、更にNGTxCでの経時的なオ

ミックス解析論文を追加し、それらの全メカニズム論文をもとにBhas 42CTAの作用機構のReviewを作成する。

F. 研究発表

F.1. 論文発表

1. Ohmori K., Oncotransformation in Bhas 42 Cell Transformation Assay by Typical Non-Genotoxic Carcinogens, PFOA and PFOS, and Time-Course Transcriptome Analysis, Biomolecules 2025, 15, 1431.

F.2 学会発表

1. 廣田京飛, 大森清美, 内田和歌奈, 山岸 夏望, 小沼泰子, 宮本健司, 内田 絢斗, 白川真一, 福田淳二. Vision Transformerを用いたBhas42細胞形質転換試験のフォーカス判定モデルの構築. 日本動物実験代替法学会第37回大会(2025.11.1-3,横浜)

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

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

厚生労働行政推進調査事業費補助金(化学物質リスク研究事業)

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

令和7年度分担研究報告書

In vitro toxicokineticsのDRP開発

研究分担者 山崎 大樹

国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター薬理部・第二室長

研究協力者 石田誠一 崇城大学・教授

研究要旨

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

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

分担研究者の山崎は、近年、ヒト外挿性の向上や動物実験代替促進の観点から製薬業界を含む多くの業界で注目を集めている生体模倣システム (MPS: microphysiological systems) について、腸-肝連結初回通過効果モデルの開発を OECD TG417 Toxicokinetics の一部を代替する試験法として AMED (国立研究開発法人日本医療研究開発機構) の課題で実施している。将来的に、腸-肝連結初回通過効果モデル試験法により TG417 の改訂あるいは新規 TG 作成を目指すべく、第一段階として「Detailed Review Paper for Gut-Liver MPS Toxicokinetics」を作成することを本研究班での最終目標としている。DRP 作成を行うにあたり、2024年度には SPSF (Standard Proposal Submission Form) を OECD へ提出し、各国専門官のレビューを経て、2025年4月の OECD WNT 会議にて DRP 作成が承認された。2025年度は、DRP 作成の基となる総説を国内および海外メンバーとともに作成し、英文誌への投稿を目指した。また、DRP には試験法に用いる化合物リストも必要であるため、医薬品および化学物質に関して様々な観点から選定を進めた。

A. 研究目的

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

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

分担研究者の山崎は、近年、ヒト外挿性の向上や動物実験代替促進の観点から製薬業界を含む多くの業界で注目を集めている生体模倣システム (MPS: microphysiological systems) について、腸-肝連結初回通過効果モデルの開発を OECD TG417 Toxicokinetics の一部を代替する試験法として AMED (国立研究開発法人日本医療研究開発機構) の課題で実施している。将来的に、腸-肝連結初回通過効果モデル試験法により TG417 の改訂あるいは新規 TG 作成を目指すべく、第一段階として「Detailed Review Paper for Gut-Liver MPS Toxicokinetics」を作成することを、本研究

班での最終目標としている。

B. 研究方法

B-1. DRP の作成

1. DRP 作成の前に、DRP の基となる総説を国内および海外メンバーとともに作成し、英文誌 ALTEX への投稿を目指した。
2. 2025 年 10 月に OECD より進捗状況の確認があったため、回答した。
3. 総説作成メンバーに平林センター長、小島先生、堀先生を加えて DRP 作成メンバーとした。

B-2. 化合物選定

1. DRP には試験法に用いる化合物リストが必要であるため、医薬品に関して以下の観点から選定を進めた。
 - Biopharmaceutics Classification System (BCS) クラス分類 (図 1) による膜透過性と溶解性 (小腸での透過性評価および *in vitro* 試験として溶解させる必要があるため)
 - Biopharmaceutical Drug Disposition and Classification System (BDDCS) クラス分類 (図 2) による溶解性と肝代謝 (肝代謝評価および *in vitro* 試験として溶解させる必要があるため)
 - 購入価格 (価格の上限として ¥30,000/g を選定の基準とした)
 - 安定性 (溶解した際に加水分解等により消失することを排除するため)
 - 毒物・向精神薬・麻薬 (輸送が困難なため)
2. 化学物質の選定では、CERI (一般社団法人化学物質評価研究機構) に依頼して、ヒトでの膜透過性、肝代謝の情報がなるべく評価書に掲載されているという

観点で一般化学物質 15 種類、農薬 15 種類を選定してもらった。その後、価格および安定性、輸送の観点から絞った。

using a gut-liver microphysiological system and its application to human health risk assessment」とした。

	High Solubility	Low Solubility
High Permeability	Class 1 High Solubility High Permeability Rapid Dissolution	Class 2 Low Solubility High Permeability
Low Permeability	Class 3 High Solubility Low Permeability	Class 4 Low Solubility Low Permeability

図 1 BCS クラス分類

	High Solubility	Low Solubility
Extensive Metabolism	Class 1 Transporter Effects minimal	Class 2 Efflux transporter effects predominate in the gut, while absorptive and efflux transporter effects occur in the liver
Poor Metabolism	Class 3 Absorptive transporters effects predominate (but may be modulated by efflux transporters)	Class 4 Absorptive and efflux transporters effects could be important

図 2 BDDCS クラス分類

(倫理面への配慮)
該当なし

C. 研究結果

C-1. DRP の作成

1. タイトルを「Quantitative evaluation of first-pass effects for orally ingested chemicals

章立ては下記の通り。

1. Introduction

1-1. Importance of First-Pass Effect in the Evaluation of Orally Ingested Chemicals

1-2. Challenges and Paradigm Shifts in the Safety Evaluation of Chemical Substances

2. Biological Basis of the First-Pass Effect in Humans

2-1. Definition of First-Pass Effect and Its Significance in Pharmacokinetics

2-2. Absorption and Metabolism in the Small Intestine

2-3. Uptake and Metabolism in the Liver

3. Conventional Evaluation Methods for the First-Pass Effect and Their Limitations

3-1. In vivo Tests (Animal Experiments)

3-2. In vitro Single Tissue Culture Models

3-3. In silico Models (PBPK Models, etc.)

4. Development and Evaluation of Linked Gut-Liver MPS

4-1. Basic Principles and Design of MPS

4-2. Construction Examples of Gut-Liver Two-Organ Linked MPS

4-3. Evaluation Indicators of the First-Pass Effect Using MPS

4-4. Advantages and Challenges of MPS Compared to Conventional Methods

4-5. Regulatory Applications of MPS

5. Establishment of IVIVE Methodology Targeted at Pharmaceuticals

5-1. Significance of Selecting Pharmaceuticals as Test Substances in IVIVE

5-2. Selection Strategy for Test Substances

5-3. Practice of Quantitative Extrapolation (IVIVE) Using MPS Data

6. Expansion to Safety Evaluation of General Chemical Substances

6-1. Differences and Challenges in Evaluation of Pharmaceuticals and General Chemical Substances

6-2. Role as an "Entrance" to Systemic Kinetic Prediction

6-3. Advancement of Risk Assessment Brought by MPS-IVIVE

6-4. Challenge for Evaluation of New Substances of Concern: Nano- and Microplastics

7. Challenges and Future Prospects

7-1. Technical Challenges and Efforts toward Overcoming Them

7-2. Acceptability in Regulatory Science

7-3. Future Prospects

8. Conclusion

投稿までの手順は下記の通り。

1. 日本人メンバーにて Version 1 ドラフト作成
2. 海外メンバーに展開
3. 微修正
4. 全員に Version 2 ドラフトを回覧
5. 著者の決定と投稿用原稿作成
6. ALTEX 投稿

2. 2025 年 10 月の OECD からの進捗報告には下記のように回答した(太字部分)。

- (1) Submission of an SPSF for OECD DRP development ('24.10)
- (2) Commencement of a draft for DRP development ('24.10~)
- (3) Revision and enhancement of the SPSF

incorporating feedback ('25.1-2)

(4) OECD WNT approval of the SPSF for inclusion in the OECD TGP Workplan ('25.4)

(5) Expert meeting for the drafting of the DRP ('25.6 at MPS World Summit)

→**Recruitment for the Expert Group at the MPS World Summit in Brussels resulted in the following members:**

Nicole C. Kleinstreuer (NIH), Mandy B. Esch (NIST), Bhagwat Prasad (Cincinnati Children's Hospital Medical Center), Brigit Mertens (Sciensano), Warren Casey (NIH/NIEHS/DTT/OSD), Sofia Batista (EFSA), Denise Bloch (BfR), Yusuke Masuo (Kanazawa Univ), Kazuya Maeda (Kitasato Univ), Yoshiyuki Shirasaka (Showa Pharmaceutical Univ), Hiroyuki Kusuhashi (Univ. of Tokyo), Katsuhiko Miyajima (Tokyo Univ. of Agriculture), Seiichi Ishida (Sojo Univ.), Daiju Yamazaki (NIHS) Sonja Beken (EMA) and Philip Marx-Stoelting (BfR) are the recommenders.

(6) Submission of the draft DRP by the ad hoc drafting team ('26.5)

→**We are currently preparing the review paper (ALTEX) that will form the basis of the DRP, with plans to submit it at the end of this year.**

→**We are also preparing the DRP in parallel and plan to submit the draft around May next year.**

(7) Review by the OECD metabolism and toxicokinetics expert group ('26.9)

(8) Periodic teleconferences between expert groups ('26.9-27.1) Teleconference: every 1 month, in person meeting: kick-off & progress

(9) Approval of the draft DRP at OECD WNT meeting ('27.4)

Therefore, we are proceeding according to the schedule outlined in the SPSF.

3. 2025 年度終了時点での DRP 作成メンバー候補は以下の通り。

- Nicole C. Kleinstreuer (NIH)
- Mandy B. Esch (NIST)
- Bhagwat Prasad (Cincinnati Children's Hospital Medical Center)
- Brigit Mertens (Sciensano)
- Seiichi Ishida (Sojo Univ.)
- Hiroyuki Kusuvara (Univ. of Tokyo)
- Kazuya Maeda (Kitasato Univ.)
- Yusuke Masuo (Kanazawa Univ.)
- Yoshiyuki Shirasaka (Showa Pharmaceutical Univ.)
- Daiju Yamazaki (NIHS)
- Yoko Hirabayashi (NIHS)
- Hajime Kojima (Sanyo-Onoda City Univ.)
- Takeshi Hori (NIHS)

C-2. 化合物選定

DRP に掲載する化合物リストの作成に向けて、*in vitro* 試験として物質の溶解性、小腸膜透過性、肝代謝の観点から選定が必要と考え、Custodio JM らの論文を参考にした (Custodio JM et al., *Advanced Drug Delivery Reviews*, 60, 717-733, 2008)。ここには 283 種類の医薬品が BCS クラス分類および BDDCS クラス分類とともに掲載されている。283 種類の医薬品リストに対して、補足情報としてインタビューフォームや添付文書を参考に推定のバイオアベイラビリティ、クリアランス (半減期等)、トランスポーター基質、肝代謝経路、代謝産物につ

いても加えた。その後、30,000 円/g を上限として価格および安定性による選定を行い、毒物・向精神薬・麻薬 (輸送が困難な物質) を排除した。その結果、医薬品としては 148 物質が残った (図 3)。

【医薬品】

282物質 [276物質の価格情報入手]

(国内メーカー205物質。国外メーカー71物質)
↓ -102物質 (3万円/g以上の物を除く)

180物質 (3万円/g以下の物質)

↓ -7物質 (価格不明)

173物質

↓ -7物質 (毒薬、向精神薬、麻薬)

166物質

↓ -18物質 (分解性red区分)

148物質

図 3 医薬品の選定過程

上記 148 物質のうち、溶解性が低いもの (BCS クラス II および IV) およびクリアランスが低い (半減期 10 時間以上あるいは 20 時間以上) については、そもそも実験が成立しない可能性が考えられたため事前に除く必要があると考えた。また、培地等の溶液に溶かした際に自然分解する物質や試験実施の際にプラスチックに吸着する物質についても事前に除く必要があると考え、以下のステップで選定を進めた。

Step 1: バリデーションの際、実施機関へ輸送する際に分解する物質を排除

Step 2: 培地等の溶媒に溶かした際に自然分解する物質を排除

Step 3: 試験を実施した際に、プラスチックに吸着する物質を排除

Step 4: *In vitro* 試験のため溶解性が極端に低い物質 (BCS クラス II and IV) は排除

Step 5: 試験の実施が最大でも 72 時間となることからクリアランスが極端に低い物質 (半減期 10 h 以上) は排除

Step 6: 残った物質について小腸透過性、肝代謝等の情報から 3×3 の表に分類

BCS クラス II および IV の物質を除き、半

減期 10 時間以上の物質を除いた場合、40 物質を図 4 のように分類することができた。条件を段階的に緩和することで、54 物質(半減期 10 時間以上のみを排除、図 5)、58 物質(半減期 20 時間以上のみを排除、図 6)を分類した。

化学物質については、CERI に一般化学物質 15 種類、農薬 15 種類をヒトでの膜透過性、肝代謝の情報になるべく評価書に掲載されているという観点で選定してもらった。その結果、以下の物質が選定された。

【一般化学物質】

ID	CAS RN	名称
1	79-06-1	アクリルアミド
2	108-95-2	フェノール
3	62-53-3	アニリン
4	92-87-5	ベンジジン
5	50-32-8	ベンゾ[a]ピレン
6	118-74-1	ヘキサクロロベンゼン
7	87-86-5	ペンタクロロフェノール
8	107-21-1	エチレングリコール
9	67-68-5	ジメチルスルホキシド (DMSO)
10	872-50-4	1-メチル-2-ピロリドンNMP
11	13674-84-5	トリス(1-クロロ-2-プロピル)ホファート
12	134-62-3	N,N-ジエチル-m-トルアミド (DEET)
13	76-03-9	トリクロロ酢酸
14	100-02-7	4-ニトロフェノール
15	7758-01-2	臭素酸カリウム

【農薬】

ID	CAS RN	名称
1	138261-41-3	イミダクロプリド
2	120068-37-3	フィプロニル
3	1229023-00-0	スピロビジオン
4	1616678-32-0	オキサゾスルフィル
5	24307-26-4	メピコートクロリド
6	148477-71-8	スピロジクロフェン
7	374726-62-2	マンジプロパミド
8	1861-32-1	クロルタルジメチル
9	14698-29-4	オキシリニック酸
10	2061933-85-3	イソシクロセラム
11	1651191-47-7	シクロピラニル
12	2797-51-5	キノクラミン
13	18409-60-3	シフルフェナミド
14	148-79-8	チアベンダゾール
15	2921-88-2	クロルピリホス

テキサス A&M 大学の Ivan Ryusin 先生から提供された化学物質リストも含めて価格調査により、39 物質から 26 物質に減少した。

D. 考察・結論

DRP 作成について、SPSF におけるワークプランでは 2026 年 5 月に DRP ドラフトを提出する予定であったが、DRP の基となる総説の作成が大幅に遅れており、下記のようにワークプランを修正(赤字)する必要が生じた。

(6) Submission of the draft DRP by the ad hoc drafting team ('26.5→'27.2-3)

(7) Review by the OECD metabolism and toxicokinetics expert group ('26.9→'27.6)

(8) Periodic teleconferences between expert groups ('26.9-'27.1)

Teleconference: every 1 month, in person meeting: kick-off & progress

→Submission of the revised DRP ('27.12)

(9) Approval of the draft DRP at OECD

WNT meeting ('27.4→'28.4)

上記ワークプランを実行するため、2026年度の早期に総説を投稿し、その投稿原稿を基に DRP 作成グループにてテレカンを実施する必要がある。2026年5月には MPS World Summit が開催されることから、関係者での打ち合わせにより、下記のようなスケジュールが提案された。

2026年5月：MPS World Summit (ワシントン DC) にて DRP 作成メンバーを確定 (6月末のテレカン実施も含めて話を進めておく)

この段階で総説原稿が受理されていることが望ましいが、少なくとも査読結果 (revision) が返却されている状況が望ましい。2026年6月末：DRP 作成メンバーにてテレカン実施 (6/24, 26, 29日 20:00～候補日時)

化合物選定については、分類した医薬品について代謝経路を確認すると、複数の酵素による代謝を受けるものが多く残っていた。また、特定のクラスに多くの薬剤が分類されるという結果になった。複数酵素で代謝を受ける薬剤の評価は結果の解釈が困難になることが予想されるため、代謝経路が比較的単純な薬剤が望ましいと考える。

化学物質については、劇薬を除いてしまうと合計 18 物質にまで減少してしまうため、現時点では劇薬を除く必要はないと判断した。また、残っている物質の中には、溶媒として用いられている DMSO や様々な製品の材料として用いられているポリエチレングリコールも含まれており、これらを被験物質として残すことに疑問がある。

従って、薬剤・化学物質リストから価格や安定性を基に選定する方法ではなく、3×3 に分

類した物質が価格や安定性の条件を満たすかを確認する逆の選定方法が適切なのではないかと考えており、今後そのような方針で選定を進める予定である。また、6/18 に予定されている会議までに 100 物質 (医薬品 75%、化学物質 25%) のリストを作成する。

E. 研究発表

E-1. 論文発表

Negoro R, Deguchi S, **Yamazaki D**, Takayama K, Fujita T. Genome edited intestine liver on a chip system for integrated intestinal hepatic drug absorption and metabolism evaluation. Sci Rep. 15(1):38609, 2025.

E-2 学会発表

1. **山崎大樹**, 木村啓志, 足利太可雄, 堀武志, 佐藤薫, 最上由香里, 石田誠一. 生体模倣システム(MPS)の行政的利用の推進戦略と評価法構築における考慮事項. 第15回レギュラトリーサイエンス学会学術大会, 2025/9/6
2. **山崎大樹**. 生体模倣システム(MPS)の行政的利活用に向けた動向. 日本薬学会第146年会, 2026/3/28

F. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

【BCSクラスII and IVを排除（40物質）】

Gut absorption

【半減期10 h以上を排除】

Liver Metabolism	High (BCS class I)			Moderate (BCS class I / III)		Low (BCS class III)	
	P450/GSH conj. BDDCS class I and II			Dexamethasone, Levamisole			
	(12うち重複1)			(2)		(0)	
	Levodopa, Metronidazole, Prednisolone, Salicylic acid, Valproic acid, Zidovudine			Abacavir sulfate		Propylthiouracil,	
Liver Metabolism	Gluc. Sulf. Hydrolysis BDDCS class I and II			(1)		(1)	
	(6うち重複1)						
	Albuterol sulfate, Ethambutol (Di)hydrochloride, Ketorolac tromethamine, Levofloxacin, Solriamfetol, Stavudine			Acyclovir sodium, Captopril, Lamivudine		Cimetidine, Didanosine, Famotidine, Methyldopa, Penicillamine, Ranitidine Hydrochloride, Trichlormethiazide, Trimethoprim, Zalcitabine	
Liver Metabolism	Low/none (BDDCS class III and IV)			(3)		(10)	
	(6)						

図 4 BCS クラス II および IV 物質を排除、半減期 10 時間以上の物質を排除した場合の分類

【BCSクラスII and IVを排除せず（54物質）】

Gut absorption

【半減期10 h以上を排除】

Liver Metabolism	High (BCS class I and II)			Moderate (BCS class I / III and II / IV)		Low (BCS class III and IV)	
	P450/GSH conj. BDDCS class I and II			Albendazole, Dexamethasone, Levamisole, Pyrantel pamoate,			
	(19うち重複2)			(4うち重複1)		(0)	
	Levodopa, Metronidazole, Papaverine hydrochloride, Prednisolone, Salicylic acid, Tolmetin, Valproic acid, Zidovudine			Abacavir sulfate, Pyrantel pamoate,		Propylthiouracil,	
Liver Metabolism	Gluc. Sulf. Hydrolysis BDDCS class I and II			(2うち重複1)		(1)	
	(8うち重複2)						
	Albuterol sulfate, Ethambutol (Di)hydrochloride, Ketorolac tromethamine, Levofloxacin, Nitrofurantoin, Ofloxacin, Solriamfetol, Stavudine			Acyclovir sodium, Captopril, Lamivudine, Sulfadiazine		Chlorothiazide sodium, Cimetidine, Didanosine, Famotidine, Methyldopa, Norfloxacin, Penicillamine, Ranitidine Hydrochloride, Trichlormethiazide, Trimethoprim, Zalcitabine	
Liver Metabolism	Low/none (BDDCS class III and IV)			(4)		(11)	
	(8)						

図 5 半減期 10 時間以上の物質のみを排除した場合の分類

【BCSクラスII and IVを排除せず（58物質）】

Gut absorption

【半減期20 h以上を排除】

Liver Metabolism	High (BCS class I and II)			Moderate (BCS class I / III and II / IV)		Low (BCS class III and IV)	
	P450/GSH conj. BDDCS class I and II			Albendazole, Dexamethasone, Levamisole, Pyrantel pamoate,			
	(20うち重複2)			(4うち重複1)		(0)	
	Levodopa, Metronidazole, Papaverine hydrochloride, Prednisolone, Salicylic acid, Tolmetin, Valproic acid, Zidovudine			Abacavir sulfate, Pyrantel pamoate,		Propylthiouracil,	
Liver Metabolism	Gluc. Sulf. Hydrolysis BDDCS class I and II			(2うち重複1)		(1)	
	(9うち重複2)						
	Albuterol sulfate, Amantadine hydrochloride, Ethambutol (Di)hydrochloride, Ketorolac tromethamine, Levofloxacin, Nitrofurantoin, Ofloxacin, Solriamfetol, Stavudine			Acyclovir sodium, Captopril, Lamivudine, Sulfadiazine		Chlorothiazide sodium, Cimetidine, Didanosine, Famotidine, Fexofenadine hydrochloride, Methyldopa, Norfloxacin, Penicillamine, Ranitidine Hydrochloride, Trichlormethiazide, Trimethoprim, Zalcitabine	
Liver Metabolism	Low/none (BDDCS class III and IV)			(4)		(12)	
	(9)						

図 6 半減期 20 時間以上の物質のみを排除した場合の分類

厚生労働行政推進調査事業費補助金（化学物質リスク研究事業）

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

令和7年度分担研究報告書

OECD ESCAプロジェクト対応

研究分担者 西村 拓也

国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 毒性部 第三室長

研究要旨

近年、動物実験に依拠しない化学物質評価を推進する観点から、New Approach Methodologies（NAM）の開発と規制利用の加速が国際的に重要な課題となっている。OECDのAdvisory Group on Emerging Science in Chemicals Assessment（ESCA）は、NAMの開発、Adverse Outcome Pathway（AOP）及びIntegrated Approaches to Testing and Assessment（IATA）の構築を進める各国・地域・関連団体に対して適切な助言及び支援を行い、化学物質の国際的なリスク評価の現代化・高度化に貢献することを目的とする枠組みである。研究分担者は、研究代表者の平林、研究分担者の中江及び研究協力者の森（日化協）とともに、OECD ESCAのAdvisory Group会議（2025年3月31日～4月1日開催）並びに新規プロジェクト提案に関するweb会議（2025年12月10日）、中間会議（2026年1月15日）に出席し、NAMの公定化を進めるための仕組みや、各国から提案される新規プロジェクトに関する情報収集を行った。

本年度は、オミクス及びAI手法を活用した毒性評価、特に遺伝毒性評価の近代化・高度化に関する議論が進展したほか、オミクス報告フレームワーク（OORF）や試料採取ガイダンスの整備、OORF報告の自動化による規制レビュー効率化の推進など、オミクスの規制導入に向けた基盤整備が進められた。また、肝オルガノイドを用いた肝毒性評価、生殖発生毒性分野における動物を用いない規制評価ロードマップへの関心、発達神経毒性 in vitro batteryにおける参照物質選定上の課題などが議論された。これらの動向は、我が国におけるNAM開発の推進及び化学物質規制への将来的な活用を検討する上で重要であり、継続的な情報収集と対応の必要性が改めて認識された。

A. 研究目的

本研究班は、NAMの開発を加速し、新興技術に基づく評価法の公定化を促進するとともに、他国が提案するOECDの大型プロジェクトに関与し、その成果を化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）や毒物及び劇物取締法（毒劇法）等の我が国の厚生労働行政に反映させるこ

とを目的とする。

このうち本研究分担者（西村）は、OECD ESCAにおける議論及び関連プロジェクトの動向を継続的に把握し、NAM、AOP及びIATAに関する国際的な制度設計や技術的課題に関する情報を収集・整理することにより、我が国における対応の検討に役立てることを目的とする。

B. 研究方法

研究分担者（西村）は、研究代表者の平林、研究分担者の中江及び研究協力者の森（日化協）とともに、OECD ESCA の Advisory Group 会議（2025 年 3 月 31 日～4 月 1 日開催）及び新規プロジェクト提案に関する web 会議（2025 年 12 月 10 日）中間 web 会議 2026 年 1 月 15 日に出席した。これらの会合において、NAM に関して公定化を進める仕組み、オミクスや AI 等の新興技術の規制利用に向けた課題、並びに各国が提案する新規プロジェクトの内容及び検討状況について情報収集を行った。収集した情報について、我が国における化学物質規制への活用可能性の観点から整理し、今後の行政対応に必要な論点の抽出を行った。

（倫理面への配慮）本研究は、動物を用いない調査研究である。

C. 研究結果

国際情報調査として、ESCA 会合及び web 会議における主な動向及び論点は以下のとおりである。

1) オミクス及び AI を活用した毒性評価

オミクス及び AI 手法を活用した毒性評価、特に遺伝毒性評価の近代化・高度化は、ESCA における重要な論点の一つであった。error-corrected next-generation sequencing (ecNGS) による遺伝毒性、さらには発がん性評価への展開は、今後規制導入が有望視されている分野である。また、オミクス試料採取において凍結保存を許容する TG 改訂（2025）は、ecNGS を含むオミクス解析の規制導入の加速化につながる非常に重要な動向として位置づけられる。さらに、ecNGS 等を用いた遺伝毒性・がん原性評価にとどまらず、各種毒性評価への応用も視野に入れた開発が進められており、従来の

評価体系を補完又は高度化する手段として注目されている。

ただし、オミクス手法の規制利用に向けては、報告様式の標準化、データ解析手法の整備、品質保証、曝露条件・用量設定の妥当性、ならびに利用文脈（context of use, CoU）の明確化が重要な課題として認識されている。また、現行の枠組みにおいてエピゲノミクスの位置づけが十分ではない点、曝露タイミングや曝露期間がオミクス解析結果に大きく影響し得る点、さらに CoU に応じてオミクスデータの用途を明確に整理する必要がある点などは、今後の検討課題である。

2) 肝オルガノイドを用いた肝毒性評価

肝オルガノイドを用いた肝毒性評価については、OECD の公開ワークプランにおいて、ヒト iPS 細胞の規制毒性学での利用とあわせた Detailed Review Paper (DRP) の作成が進められている。公開ワークプランでは、本件は Project 4.176 として位置づけられ、2024 年 6 月の国際専門家グループ設置を経て、2025 年第 1 四半期に DRP 作成開始、2025 年第 2～3 四半期に専門家意見を反映したドラフト提出、2026 年 4 月の WNT 会合における最短承認がマイルストーンとして示されている。肝毒性は化学物質評価上の重要なエンドポイントの一つであり、ヒト関連性の高い in vitro モデルとしての肝オルガノイドの活用可能性が、国際的にも検討段階に入っていることがうかがわれる。

ただし、規制活用を考える上では、化学物質の規制評価において当該手法をどの範囲まで活用可能であることを明確にするとともに、iPS 細胞を用いて当該評価を行う必要性や意義についても、今後さらに整理・明確化していく必要がある。

3) DNT in vitro battery における参照物質 選定上の課題

発達神経毒性 (DNT) 評価に関する DNT in vitro battery では、参照物質 (reference chemicals) の整備が引き続き重要な論点として扱われており、規制活用に向けた基盤整備の一環として議論が進められている。特に、トレーニングセット構築における物質選定の考え方について、作用機序に基づく選定を重視するのか、あるいは濃度—反応挙動に基づく選定を重視するのかが主要な論点として示された。

一方で、DNT 分野では関連する AOP がなお十分ではなく、参照物質の選定に当たって科学的根拠の整理に時間を要すること、また物質選定プロセス自体の迅速化が求められていることなど、実務上及び科学上の課題も明らかとなった。このため、今後は、科学的妥当性を確保しつつ、効率的に参照物質群を整備するための考え方や手順を明確化していく必要があると考えられる。

4) 生殖発生毒性分野における NAM の国際的動向

生殖発生毒性 (DART) 分野では、ISTNET-DART を中心として、動物を用いない規制評価ロードマップの策定に向けた国際的議論が進められている。DNT 分野での先行事例を踏まえ、DART についても、複数の NAM を統合した in vitro battery 及び tiered testing strategy として規制判断に活用していく方向性が示されている。

一方で、DART は対象とするライフステージ及び毒性事象が広範であるため、単一手法による代替は困難であり、AOP の不足、妊娠期・胎児期を含む PBK モデル整備、生物学的不確実性への対応、適用範囲の明確化等が今後の主要課題である。また、生殖

発生毒性分野は、NAM の活用が期待される有望な領域である一方で、当該分野の議論は OECD に加え、ISTNET のような国際的ステークホルダーネットワークにおいても進められているため、今後は関係組織が連携しつつ、評価手法及びその活用の考え方に関する国際的整合化を図ることが重要である。

D. 考察

本年度の ESCA における議論から、NAM の国際的な導入は、個別手法の開発段階から、規制活用を見据えた基盤整備及び運用上の整理の段階へと進みつつあることが示された。特に、オミクス及び AI を活用した毒性評価については、ecNGS を含む新たな評価技術の規制導入に向けた期待が高まるとともに、試料採取条件、報告様式、データ解析、品質保証、CoU の明確化といった実務的論点が具体化しており、評価法そのもののみならず、その受入れ基盤の整備が重要であることが明らかとなった。

また、肝オルガノイド、DNT in vitro battery、生殖発生毒性分野の NAM といった各論においても、ヒト関連性の高いモデルや統合的評価戦略の活用可能性が強く意識されていた。一方で、これらの手法を実際の化学物質規制評価に用いるためには、適用範囲の明確化、既存評価体系との関係整理、参照物質や AOP の整備、PBK モデル等との連携、生物学的不確実性への対応など、多面的な課題が残されていることも再確認された。すなわち、NAM の発展は、単なる技術導入の問題ではなく、どのような文脈で、どの程度の確からしさをもって規制判断に用いるかという枠組み全体の整理を伴うものであると考えられた。

さらに、生殖発生毒性分野にみられるように、議論の場は OECD に限られず、

ISTNET-DART のような国際的ステークホルダーネットワークにおいても活発に展開されている。このため、今後は OECD の公式な議論と、関連する国際ネットワークにおける科学的知見や実務的検討を適切に接続しながら、評価手法及びその活用の方針に関する国際的整合化を進めていくことが重要である。我が国としても、これらの動向を継続的に把握しつつ、国内での NAM 開発支援及び規制当局における受入れの検討を並行して進める必要があると考えられた。

E. 結論

本年度の OECD ESCA 会合及び関連 web 会議では、オミクス及び AI を活用した毒性評価、肝オルガノイドを用いた肝毒性評価、DNT in vitro battery における参照物質整備、生殖発生毒性分野における NAM の国際的展開など、NAM の規制導入に向けた重要な動向が確認された。

特に、個別技術の開発に加え、報告枠組み、ガイダンス、参照物質、AOP、PBK モデル、CoU の明確化等、規制活用を支える周辺基盤の整備が国際的に進められていることが明らかとなった。一方で、各手法の適用範囲、規制判断における位置づけ、科学的妥当性の示し方、国際的整合化の在り方など、なお検討を要する課題も多い。したがって、我が国において NAM の開発及び化学物質規制への活用を適切に進めるためには、OECD ESCA をはじめとする国際的議論の動向を継続的に把握し、関連分野の科学的進展と規制上の要請を踏まえた対応を検討していくことが重要である。

F. 研究発表

F.1. 論文発表

1. T. Nishimura, Y. Okubo, M. Naota, Y. Suzuki, Mutsumi Suzuki, K. Watanabe, T. Nakazawa, M. Kuwagata, H. Onodera, Y. Hirabayashi, Challenges in the Nonclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals and Perspectives for Revision of the ICH S6 Guideline Based on Analysis of Approved Products in Japan, Translational and Regulatory Sciences, 2026 (online ahead of print)

F.2 学会発表

1. 西村拓也、平林容子、小川久美子、高橋祐次、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、日本毒性学会学術年会 第 52 回、2025 年 7 月 4 日、沖縄
2. 西村拓也、高橋祐次、豊田武士、角田聡、鈴木睦、佐藤玄、小川久美子、山田隆志、平林容子、毒性試験用語の標準化に向けた用語集改訂と継続的な更新が可能なデータベース化への取り組み、医薬品毒性機序研究会 第 8 回、2025 年 12 月 11 日、札幌

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

厚生労働行政推進調査事業費補助金（化学物質リスク研究事業）

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

令和7年度分担研究報告書

Bhas42細胞形質転換試験法のTG化、及び、
NGTxC・IATAガイダンス文書作成支援

研究分担者 小川久美子

星薬科大学 毒性学研究室 教授

研究分担者 豊田武士

国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター病理部 部長

研究分担者 大森清美

神奈川県衛生研究所 理化学部 主任研究員

研究要旨

OECD では、2016 年より NGTxC の検出を目的とした IATA 開発が実施されている。ワーキンググループでは、NGTxC の作用機構（mode of action: MoA）が議論され、それに基づく IATA 構築の方針が国際合意され、2020 年に専門委員会として総説論文を公表した。本年度の活動においては、本ワーキンググループの web 会議に参加し、非遺伝毒性発がん機序、特にキーイベントの 1 つとされる、免疫修飾、細胞増殖の変動に基づく評価法開発及び reference chemical の選定について検討した。現在のところ、NGTxC の IATA は、Modular Strategy of Testing and Assessment の方法でとりまとめる方向性にある。すなわち、利用可能な既存データ、初期の主要イベントと代謝情報、機序に基づく評価、（持続的）細胞増殖と細胞形質転換、後期有害事象、WoE 総合評価を行う段階的な評価方法である。スクリーニングを目的としている場合は、初期のアッセイのみで判断することも想定されている。また、reference chemical についても議論が進められており、機序との組合せなど選定方法について整理が必要と考えられている。NGTxC については標的臓器と共に、閾値の設定の可能性についての情報も必要と考えられる。in vitro 試験のみで十分な評価が可能なのか、丁寧な議論が必要と考える。

A. 研究目的

昨今、動物実験を用いないで全身毒性を評価するため、動物実験代替法の枠に捉われない概念として、New Approach Methodology (NAM) の開発が盛んである。NAM とは「動物実験の利用を避け

た化学物質の有害性及びリスク評価における情報を用いるための技術、方法、アプローチ、またはその組み合わせ」と米国環境保護局（EPA）により定義されている。経済協力開発機構（OECD）の試験法ガイドライン（TG）プログラム各国

調整官作業班（WNT）や2023年に新設されたAdvisory Group on Emerging Science in Chemicals Assessment（ESCA）では、NAMに用いる新興技術の公定化のためのバリデーションを加速するための基準や仕組みの改定を促している。

本研究では、2016年よりOECDにおいて開発中である非遺伝毒性発がん性物質（Non-genotoxic carcinogen: NGTxC）の検出に関する試験及び評価への統合的アプローチ（Integrated Approaches to Testing and Assessment: IATA）に関する議論に参画し、そのガイダンス文書作成を支援するとともに、化学物質のヒト発がん性に関する適切な評価法に関する情報収集を実施することを目的としている。

B. 研究方法

OECDでは、2016年よりNGTxCの検出を目的としたIATA開発が実施されている。ワーキンググループでは、NGTxCの作用機構（mode of action: MoA）が議論され、それに基づくIATA構築の方針が国際合意され、2020年に専門委員会として総説論文を公表した。本年度の活動において、研究分担者等は、本ワーキンググループのweb会議に参加し、非遺伝毒性発がん機序、特に免疫修飾、細胞増殖の変動に基づく評価法開発及びreference chemicalの選定について、各団体からの検討状況報告に基づく議論に参画した。

（倫理面への配慮）
該当なし。

C. 研究結果

10月13、15、17日のweb会議においては、1) 免疫機能障害はNGTxCのキーイベントの1つであり、免疫毒性、免疫回避、免疫抑制、炎症性免疫応答等が関与してい

る。サイトカイン及びアリル炭化水素受容体を介した経路の分子的阻害は主要な役割をはたしており、NGTxCのバイオマーカーになりうるとしたサブグループの論文内容が紹介された。（Colacci A., et al, Int. J. Mol. Sci., 26; 6310, 2025）2) 細胞増殖もNGTxCのキーイベントの1つと認識されており、ヒトの肝細胞をはじめとする様々な*in vitro* アッセイ系も入手可能である。BrdUやKi-67等がキーマーカーと考えられるが、臓器によっては評価の限界もあり、規制への応用においては、現時点では方法論としてもバリデーションされていないことやヒトからのサンプルを用いる場合の倫理的問題点についても意見があった。3) これらのアッセイ系の妥当性を検証するためには、参照化学物質（reference chemical）の選定が必要であるとされることから、適切な陽性対照及び陰性対照の選定と選定基準について議論された。

12月17日、1月9日、3月18日にもweb会議が開催され、それぞれ免疫毒性、参照化学物質についての議論があり、現在参照物質の選定に関する評価文書の草稿を策定している。

D. 考察

これまでにあげられてきたキーイベントに基づくアッセイ系の妥当性を評価するためには、一定の陽性及び陰性の参照化合物が必要であり、国際がん研究機関（International Agency for Research on Cancer: IARC）のGroup 1物質のうち遺伝毒性を認めない化合物などを選定している。一方で、機序によっては陽性物質であっても陽性を示さない場合も想定されるため、アッセイ系の妥当性評価の判断には更なる検討が必要と考えられた。さらに、Gap junction, apoptosisの抑制など、十分な

検討が終了していないアッセイブロックも残されており、引き続きの議論が求められている。

E. 結論

現在のところ、NGTxC の IATA は、Modular Strategy of Testing and Assessment の方法でとりまとめる方向性にある。すなわち、利用可能な既存データ、初期の主要イベントと代謝情報、機序に基づく評価、(持続的)細胞増殖と細胞形質転換、後期有害事象、WoE 総合評価を行う段階的な評価方法である。スクリーニングを目的としている場合は、初期のアッセイのみで判断することも想定されている。また、reference chemical についても議論が進められており、機序との組合せなど選定方法について整理が必要と考えられている。NGTxC については標的臓器と共に、閾値の設定の可能性についての情報も必要と考えられる。*in vitro* 試験のみで十分な評価が可能なのか、丁寧な議論が必要と考える。

F. 研究発表

F.1. 論文発表

1. Vachiraarunwong A, Fujioka M, Alexander DB, Suzuki S, Guo R, Qiu G, Kawamura Y, Shibano K, Noura I, Praseatsook K, Akane H, Takasu S, Tsuda H, Ogawa K, Wanibuchi H, Gi M. Developing a novel *in vitro* toxicity assay for predicting inhalation toxicity in rats. *Toxicol Lett.* 2025;111803. doi: 10.1016/j.toxlet.2025.111803.

F.2 学会発表

1. 小川久美子, 松下幸平, 豊田武士. 非ヒト霊長類の代替法に関する研究 -免疫

毒性の視点から-. 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025.7.3)

2. 酒井 寛泰, 木山 美穂, 染谷 柚杏, 北村 陽佳, 与那嶺 栞, 里 史明, 今 理紗子, 五十嵐 信智, 千葉 義彦, 細江 智夫, 小川 久美子. シスプラチンおよびビンクリスチン投与によるマウス皮膚におけるコラーゲンおよびエラスチンの発現抑制. 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025.7.2)
3. 小川久美子, 赤根弘敏, 豊田武士. 機序に基づく抗甲状腺物質の *in vivo* 評価法開発と国際動向. 日本動物実験代替法学会 第 28 回大会 (2025.11.1)

G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他

厚生労働行政推進調査事業費補助金（化学物質リスク研究事業）

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

令和7年度分担研究報告書

OECD ESCAプロジェクト対応

研究分担者 中江 大

帝京平成大学健康医療スポーツ学部

医療スポーツ学科動物医療コース 教授

研究要旨

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

本研究では、以下の会議等に参加した。

- ・2025年3月31日-4月1日 ESCA 第3回会議参加（ブローニュー/リモート）
- ・2025年4月1日 ESCA/WNT 合同会議参加（ブローニュー/リモート）
- ・2025年12月10日 iPSC ベース 3D モデルによる肝毒性に関する DRP に関する
テレカンファレンス参加（リモート）
- ・2026年1月15日 ESCA 中間期テレカンファレンス参加（リモート）
- ・各種文書案やAOP 案などのレビュー：特に「iPSC ベース 3D モデルによる肝毒性に
関する DRP」初稿
- ・ESCA フォーラムにおけるディスカッション

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

ESCA の活動は多岐に渡り、WPHA や WNT ほか各種の関連組織との連携により、新たな試験法開発に資するものである。

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

A. 研究目的

本研究の目的は、OECD の Working Party on Hazard Assessment（WPHA）や Working Group of National Co-ordinators of the Test

Guidelines Programme（WNT）において進められている新しい試験法開発に対する諮問への対応や、OECD が取り組むべき課題に関する提言を行うべく設けられた

Advisory Group on Emerging Science in Chemicals Assessment (ESCA) プロジェクトに参画し、OECDにおける試験法開発の現状を把握すると共に、当該プロジェクトに貢献することである。

B. 研究方法

本研究は、以下の会議等に参加した。

- ・2025年3月31日-4月1日 ESCA 第3回会議参加（ブローニュ/リモート）
- ・2025年4月1日 ESCA/WNT 合同会議参加（ブローニュ/リモート）
- ・2025年12月10日 iPSC ベース 3D モデルによる肝毒性に関する DRP に関するテレカンファレンス参加（リモート）
- ・2026年1月15日 ESCA 中間期テレカンファレンス参加（リモート）
- ・各種文書案や AOP 案などのレビュー：特に「iPSC ベース 3D モデルによる肝毒性に関する DRP」初稿
- ・ESCA フォーラムにおけるディスカッション

（倫理面への配慮）

会議出席であるので、倫理面への配慮を必要としなかった。

C. 研究結果

1. ESCA 第3回会議

- ・iPSC 由来肝オルガノイド DRP
- *韓国主導の WNT/ESCA 合同プロジェクト
- *草案がほぼ完成し、ESCA に回覧予定
- ・TG 407・408・422・421（毒性）・203・210・236（環境毒性）の改訂と、試料凍結保存をオプション化してオミクス解析に活用する試み
- *「オミクス解析用試料採取のベストプラクティスおよび標準化に関する OECD ガイダンス文書（欧州化学品庁（ECHA）主

導）」と連携する WNT プロジェクトで ESCA に回覧予定

・画像解析を用いた in vitro 試験法の OECD TG への導入

- *ESCA フォーラム由来
- *細胞の形態・機能・分化状態・3D 構造などを多次的に捉えることが可能であり、iPSC や Organ-on-Chip といった新技術との親和性が高い
- *規制導入上の問題点があり、さらなる検討が必要
- #バリデーション
- #品質管理
- #GLP 環境への導入
- #データ管理・アルゴリズムの信頼性
- ・発達・発生毒性（DART）分野の NGRA への移行

- *韓国ケーススタディ（フタル酸エステル類）：NAMs 特定から NGRA 枠組み構築へ
- ・ゼブラフィッシュ胚モデル
- *発生毒性・内分泌かく乱評価に有望
- *高い遺伝的相同性、ハイスループット
- *内部被曝量評価や、神経毒性評価での非特異的影響との区別が困難

・AOP

- *アンドロゲンシグナル攪乱と尿道下裂に関する AOP（デンマーク）：支持
- *生物医学データのための AOP 報告標準（米国 EPA・JRC）：支持
- *AhR 活性化と子宮内膜症：重要性は認識するが、現時点では成熟度不足

・AOP の発展的展開

- *遺伝毒性および成人神経毒性に関する AOP ネットワーク開発
- *定量的 AOP（qAOP）の定義
- *ガイダンス整備
- ・オミクス
- *オミクスデータの規制利用目的の明確化、

曝露条件、データ解釈枠組みの重要性

#OECD Omics Reporting Framework (OORF) の拡張

#プロテオミクス、エンリッチメント解析用モジュールの開発

#ICCS Toxicogenomics Tool による OORF 自動入力支援

・AI4AOP 構想・Omics2AOP プロジェクト

*AOP-Wiki を学習データとして活用する AI4AOP 構想と、オミクスデータと AOP を結び付ける Omics2AOP プロジェクトへの参加者募集

2. ESCA/WNT 合同会議のトピック

・OECD 試験ガイドライン・プログラム (TGP) において、オミクス技術および AI を活用し、遺伝毒性評価をどのように高度化・効率化できるかを検討することが目的
・遺伝毒性は多くの化学物質評価で共通基盤となるエンドポイントであり、新興技術の有用性を示す題材として位置づけ

・技術的課題、標準化、規制当局の理解促進といった観点から議論が行われ、将来的に TG へ組み込まれ得る具体的なアプローチが紹介された。

・エラー補正次世代シーケンシング (ecNGS) プロジェクト

*詳細レビュー文書 (DRP) がすでに TGP 作業計画に含まれており、本技術の性能、適用範囲、規制上の有用性を体系的に整理
*短期 in vivo 遺伝毒性試験に適用可能である。

*TG 488 における突然変異測定 of 代替手法として利用できる可能性がある。

*28 日・90 日反復投与試験など既存の一般毒性試験と統合可能である。

*既存 TG に「差し込める」標準プロトコルとして設計可能である。

*試料凍結保存をオプションとして組み込む OECD TG 改訂プロジェクト (TG 407、408、422、421、ならびに TG 203、210、236)

が TGP 作業計画に新たに含まれ、WNT 第 37 回会合で改訂 in vivo TG が承認された。

*OECD Omics Reporting Framework (OORF) についても、ecNGS データ報告を可能とする改訂作業が進められている。

*がんドライバー突然変異のクローン増殖が発がん早期バイオマーカーたり得るについて検証中 → 遺伝毒性・非遺伝毒性発がん物質検出に利用できるか？

・トランスクリプトミクス・バイオマーカーを用いた有害性評価

*既知の参照化学物質に曝露した細胞や動物の遺伝子発現データを用い、機械学習などの手法により、毒性応答や作用様式を予測する遺伝子セットを同定

*GARDskin：皮膚感作試験法：トランスクリプトミクス・バイオマーカーを用いて開発・検証され、OECD に正式採択された初の試験法で、オミクスデータが規制用途で受容され得ることを示す重要な前例

*肝毒性・遺伝毒性・発がん性・内分泌かく乱などのエンドポイントに関する有望なトランスクリプトミクス・バイオマーカーが開発段階にある。

*TGx-DDI、GENOMARK：遺伝毒性試験法を用いる遺伝子群は異なるにもかかわらず、判定結果が非常に類似

*トランスクリプトミクス・バイオマーカーが、作用機序に基づく頑健な指標となり得、動物実験削減や試験効率化への貢献が期待される。

#さまざまな組織・細胞型で測定可能

#in vitro・in vivo 試験への統合が可能

#過去に取得された試料の再解析が可能

3. iPSC ベース 3D モデルによる肝毒性に

関する DRP に関するテレカンファレンス
・iPSC 章（第 1 章）は肝毒性章（第 2 章）から成る「肝毒性に関する iPSC ベース 3D モデルの DRP」初稿に対する専門家グループ・ESCA メンバーのコメントと、今後の文書作成の方向性についての助言を纏めることを目的とした。

・第 1 章は完成度が比較的高いため、議論の大半は第 2 章に集中

・iPSC の使用については国際幹細胞研究学会（ISSCR）による国際的に合意された強力な勧告がすでに存在する一方、非医薬品化学物質による肝毒性を NAMs で評価する試みは、依然として探索的段階にあることが指摘された。

・韓国で開発された肝オルガノイドモデルを基にしたケーススタディを DRP に組み込む提案

*第 1 章と第 2 章をつなぐ役割を果たすものとし支持を得た。

*医薬品についてはバリデーションが完了しており、20 種類の化学物質について現在検証が進行中

*ISO にも提案されているため、OECD に提案されるモデルとの違いを明確にし、重複や著作権問題に注意する必要がある。

#ISO への提案は 肝オルガノイドモデルの品質管理および品質保証 に関するものであり、肝毒性予測への使用 を目的としたものではないとの説明があった。

・肝毒性章の課題

*既存文献の肝毒性モデルはほとんど医薬品を対象とし、副作用探索や治療目的で開発されており、規制毒性学の観点でのレディネス情報が不足している。

*肝毒性は多様な毒性経路を含むため、広範な総論的整理よりも、TGP（試験ガイドラインプログラム）のニーズに即した、焦点を絞った DRP の方が有用

*代謝関連については、毒性動態や CYP 誘導など、すでに 既存または開発中の OECD TG でカバーされているものがあるので整理して、当該部分を外すことを検討

*薬物性肝障害（DILI）への注目は重要だが、DRP の対象は医薬品ではないため、DILI は本来「薬物誘発性の有害影響」である点に留意すべき

*iPSC 由来オルガノイドに限定すべきではなく、他の有望な 3D モデルも含めるべき。実際、初代細胞由来オルガノイドの方が iPSC 由来よりも広く使用されている。

*細胞生存率とアルブミンは、特に重要な評価指標として測定・重視すべき。

*DRP は医薬品開発の視点から、非医薬品化学物質を対象とする規制毒性学の視点へ転換することが必要。

4. ESCA 中間期テレカンファレンス

・OECD における新興科学（emerging science）を規制目的の化学物質評価にどのように実装していくかを議論する ESCA の活動の一環として開催

・ESCA は、WNT および WPHA を科学的観点から支援し、将来の試験ガイドライン（TG）やガイダンス文書（GD）、詳細レビュー文書（DRP）につながる論点整理を担っている。

・ESCA フォーラムの活用が十分ではないことが指摘され、フォーラムでの議論が次回会合の議題設定に直結するため、メンバーの積極的な参加が強く求められた。

・WPHA 関連プロジェクトの進捗報告

*OECD Omics Reporting Framework（OORF）関連モジュールの開発は順調に進行中

*Omics2AOP プロジェクトは 2025 年 10 月にキックオフ会合を実施

報告書は 2026 年第 2 四半期に公表予定

現在は下記を実施中

#注釈付け手法のレビュー

#Omics2AOP 注釈アプローチ案の作成

#AOP の分類体系注釈

*オミクス解析用試料採取のグッドプラクティスおよび標準化に関するガイダンス文書：2025 年 9 月に公表され、実装するために 2025 年 4 月に 7 つの試験ガイドライン（生態毒性 3 件、ヒト健康 4 件）が改訂され、6 月に公表

*化学物質グルーピングに関する OECD ガイダンス第 3 版：2025 年 10 月に公表

*規制評価のための研究データの生成・報告・利用に関する OECD ガイダンス文書：2025 年 10 月に公表され、11 月にウェビナーを開催

*非 TG 研究データ報告用調和テンプレート（OHTR）：2026 年 4～5 月に IUCLID へ実装予定で、形式の最終決定やケーススタディによるフィードバック収集を計画

・WNT 作業計画の進捗報告

*2025 年 6 月に以下の試験ガイドライン（TG）が採択

#TG 254：マルハナバチ（*Osmia* 属）を用いた急性接触毒性試験

#オミクス解析用組織採取を可能とする 7 件の TG 改訂

#皮膚感作性に関する TG 497 における Skin Sensitization Risk Assessment - Integrated Chemical Environment Model（SARA-ICE）定義アプローチの採択

#ベイズ統計を用いた、OECD 初の完全 in silico 定義アプローチ

*既存 TG に計算論的手法（QSAR 等）をどのように評価・追加するかについて議論が進行中で、今後 ESCA にも進捗が報告される。

・WNT-ESCA 共同プロジェクトの進捗報告

*ecNGS による遺伝子突然変異評価に関す

る DRP

*iPSC および肝オルガノイドを用いた肝毒性評価に関する DRP

・新規 AOP プロジェクト提案（ノルウェー（NIVA））

*過剰 ROS 生成による慢性環境毒性に関する AOP

*内分泌かく乱物質による代謝機能障害関連脂肪性肝疾患（MASLD）進行に関する AOP

いずれも規制上の重要性は高いものの、既存 AOP との関係整理やメカニズムの補強が必要と指摘した上で、作業部会提出に向けて前向きに支持

・2025 年に公表された AOP の紹介

・ESCA による AOP レビュー手続きの改善提案

・OECD の新出版戦略により、AOP は今後 Series on Testing and Assessment（MONO）として公表され、OECD が著者扱いとなる点が説明された。可視性低下を補うため、学術誌での AOP 公表促進が重要とされた。

・SAAOP からは、組織体制強化、レビュー支援、コーチング、AOP-Wiki 3.0 支援などの活動報告が行われた。

・2026 年 6 月 ESCA 会合に向けた検討テーマ

*各国 NAMs ロードマップの共通点と相違点（特に韓国の取組）

*オミクスを用いた in vitro 規制毒性評価

*定量的 AOP（qAOP）

*定義、表現方法、IATA や NGRA への実装

*複数の既存プロジェクトをケーススタディとして活用

*他イニシアチブ（特に PARC）との連携と重複回避の重要性も指摘された。

D. 考察

1. ESCA 第 3 回会議

- ・議論を具体的成果につなげる。
- *ESCA フォーラムでの継続的議論
- *ウェビナー開催
- *ガイダンス文書やDRPのプロジェクト化

2. ESCA/WNT 合同会議

- ・オミクスや AI を規制評価に導入する上では下記が不可欠。

- *データの標準化
- *報告様式の統一（OORF）
- *品質管理および透明性
- *規制当局が技術を理解し、判断できる環境整備

- ・オミクスと AI が遺伝毒性評価をより機能的で情報量の多いものへと進化させ得ることを示され、今後は DRP 作成・TG 改訂・報告枠組み整備を通じて、段階的かつ現実的に TGP へ統合していくことが期待される。

3. iPSC ベース 3D モデルによる肝毒性に関する DRP に関するテレカンファレンス

- ・コメントおよび TC での議論を踏まえて章を改訂
- ・ケーススタディを追加
- ・改訂版 DRP は、2026 年 3 月に専門家グループへ再提示され、さらなる議論が行われる予定

4. ESCA 中間期テレカンファレンス

- ・ESCA は、新興科学の情報共有の場にとどまらず、規制実装を見据えた論点整理と方向付けのハブとしての役割を一層強めていく必要があることが再確認された。

E. 結論

ESCA プログラムは、OECD の活動の中で今後重要な役割を果たすものと考えられ

た。新しい試験法の開発を進めるに当たっては、第三者による科学的で客観的な査読・助言が必要である。ESCA は、その主体として有効な組織であると考ええる。

次回 ESCA 会合は韓国・ソウルで開催予定である。

当初は 2026 年 6 月 24-25 日の ESCA 会合と翌 26 日の国際シンポジウムがアナウンスされたが、年度が変わってから日程が変更され、2026 年 10 月 14-15 日の ESCA 会合と翌 19 日の国際シンポジウムということになった。

F. 研究発表

F.1. 論文発表

なし

F.2 学会発表

なし

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

令和7年度 厚生労働行政推進調査事業費補助金（化学物質リスク研究事業）

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

令和7年度分担研究報告書

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

研究分担者 小島 肇

山陽小野田市立山口東京理科大学 教授

研究要旨

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

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

本年度、日本で開発された皮膚感作性試験代替法 EpiSensA, ADRA 及び IL-8 Luc assay が GL497 (Defined Approach on Skin Sensitization) に追加収載されるとともに、免疫毒性試験 IL-2 Luc LTT が TG444A に追加収載された。さらに眼腐食性及び強度刺激性物質を同定するためのウシ角膜を用いる混濁度及び透過性試験 (TG437) に病理標本の利用に関する記載が追記され、9月までに OECD のホームページで公開された。

研究協力者

相場節也（元東北大学医学部皮膚科）

赤堀有美（一般財団法人 化学物質評価
研究機構）

荒川大（金沢大学）

石田誠一（崇城大学）

今村弥佳（富士フイルム株式会社）

大野彰子（国立医薬品食品衛生研究所）

小野 敦（岡山大学薬学部）

立花滋博（一般財団法人食品薬品安全セ
ンター 秦野研究所）

中村昌文（株式会社日吉）

堀 武志（国立医薬品食品衛生研究所）

安彦行人（国立医薬品食品衛生研究所）

A. 研究目的

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

本研究班は、このような世界的な動向に呼応してNAMの開発を加速し、新興技術に基づく評価法を公定化させるとともに、他国が提案する OECD 大型プロジェクトに関

与し、得られた成果を化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）や毒物及び劇物取締法（毒劇法）などの我が国の厚生労働行政に反映させることを目的とする。

B. 研究方法

B-1. TG、DRP 及び IATA 等の開発

B-1-1. 皮膚感作性試験代替法の開発

- 1) 研究代表者の平林容子および研究分担者の足利太可雄とともに、これまで日本で開発された皮膚感作性試験代替法 EpiSensA, ADRA 及び IL-8 Luc assay がガイドライン (GL) 497 (Defined Approach on Skin Sensitization) に追加収載されるよう尽力した。また、GL497 への *in silico* モデルの追加収載に関する WNT の議論に参加した。
- 2) 足利及び研究協力者の赤堀有美 (CERI)、小野敦 (岡山大学) 及び大野彰子 (国立衛研) らとともに、皮膚感作性試験代替法 α -SENS を TG442D に追加することを目指し、のバリデーション報告書、peer review 報告書及び TG 案を作成した。
- 3) 足利及び研究協力者の立花滋博 (食品薬品安全センター) らとともに、新規表皮モデルを用いた Epi2SensA を TG442D に追加することを目指し、フランスが主導するバリデーション研究に協力した。バリデーション報告書、peer review 報告書、バリデーション論文及び TG 案の作成に協力した。

バリデーションに参加した食品薬品安全センターは、日程の関係で施設間再現性試験に参加し、施設内再現性試験には参加できなかった。そこで、バリデーション終了後となってしまった

が、施設内及び施設間再現性が悪かった物質について追試験を実施した。

- 4) 研究協力者の今村弥佳（富士フィルム）らとともに、日本で開発された *in silico* 予測モデルの開発や組み込んだ場合の予測率の計算を行い、新規提案書（Standard Project Submission Form :SPSF）を作成した。

B-1-2. 免疫毒性試験代替法の開発

平林及び研究協力者の相場節也（元東北大学）とともに、免疫毒性試験 IL-2 Luc LTT の TG 採択を目指した。

また、免疫毒性試験 IL-2 Luc LTT に用いる 2H4 細胞の安定供給について、供給先の Tottori Bio と議論した。

さらに、免疫毒性試験の IATA 開発について検討した。

B-1-3. 腎毒性試験代替法（*in vitro* 腎毒性試験法）の開発

平林、研究分担者の松下幸平及び足利、協力研究者の荒川大（金沢大学）、堀武志及び安彦行人（国立衛研）とともに、日機総が市販しているヒト腎細胞 3D-RPTEC(R) を *in vitro* 腎毒性評価法の TG とするための手始めとして、Detailed Review Paper (DRP) 開発に関する SPSF を作成した。

B-1-4. 初回通過効果試験代替法（*in vitro* toxicokinetics）の開発

平林、研究分担者の山崎大樹、研究協力者の石田誠一（崇城大学）及び堀とともに作成した *in vitro* toxicokinetics に関する DRP 開発の SPSF が OECD にて承認されたため、DRP 開発に先んじて元となる Review paper の作成を進めた。また、一

般化合物及び及び農薬合わせて 100 物質程度について、ヒトでの小腸透過、代謝の情報がある化合物の選定を進めた。

B-1-5. 眼刺激性試験代替法の開発

日本主導で進めてきた眼腐食性及び強度刺激性物質を 同定するためのウシ角膜を用いる 混濁度及び透過性試験法（TG437）に病理標本の利用を追記した改定案を米国 Institute for *In Vitro* Sciences 社 (IIVS) とともに作成に務めた。

B-1-6. TG455: VM7Luc ER TA assay に用いる VM7 Luc4E2 細胞株の品質保証

株式会社日吉が保管している VM7 Luc4E2 細胞株が TG455 の適格性を満たすか米国及び英国のナショナルコーディネーターから打診を受けた。

TG455 の熟達度確認物質に準じた性能評価書の提出を株式会社日吉に打診したところ、結果がないことが明らかになった。そこで、品質保証試験の実施を依頼した。

B-2.WNT 対応

平林及び協力研究者の堀及び安彦とともに、OECD WNT の成果物を厚生労働行政に反映させるため、日本から OECD に提出する資料を事前に確認するとともに、諸々の提案資料に対する OECD からの意見募集に適切な意見を返した。

平林は WNT 会議（2025 年 4 月 1－4 日）に現地で参加し、東野正明分析官、工藤俊明分析官（厚生労働省）および小島等は web で参加した。

C. 研究結果

C-1. TG、DRP 及び IATA 等の開発

C-1-1. 皮膚感作性試験代替法の開発

- 1) 2025年のWNT会議にて、EpiSensA, ADRA 及び IL-8 Luc assay が GL497 (DASS) に追加収載されることが決まり、6月にOECDにて公開された。なお、新たな*in silico*モデルのGL497への収載はWNTにて議論が継続中である。
- 2) 新規皮膚感作性試験代替法 α -SENS のバリデーション実験は昨年度終了した。今年度は、バリデーション報告書、peer review 報告書及びTG案を11月にOECDへ提出した。バリデーションの結果から、計画通りの再現性及び予測性が得られており、TG成立に支障となる問題点は見つかっていない。
- 3) 新規表皮モデルEpiDermを用いたEpi2SensAのバリデーション報告書、peer review報告書及びTG案をOECDへ11月に提出した。バリデーションの結果、EpiSensAの予測モデルでは再現性に欠けた。Epi2SensAの結果に合わせて陽性の判断基準を変更し、細胞生存率(60%：EpiSensAは80%)、4遺伝子の内、2遺伝子が基準を超えた場合を陽性（EpiSensAは1遺伝子）とした場合、バリデーションの受け入れ基準を満たした。これら結果を記載したバリデーション論文が3月末に受理された。

食品薬品センターにおける追加検討に関しては、施設内再現性及び施設間再現性が悪かった6物質を用いて評価した。その結果、Epi2SensAの陽性基準は、細胞生存率(60%)、4遺伝子の内、1遺伝子が基準を超えた場合が妥当と判断され、上記基準と若干

異なった。

- 4) 富士フイルムが提案した*in silico*モデルに関しては、11月にSPSFを提出した。採択の可否は2026年のWNTで決まる。

C-1-2. 免疫毒性試験代替法の開発

本年4月に開催されたOECD WNT会議において、免疫毒性試験IL-2 Luc LTTがTG444Aに追記され、6月に公開された。

Tottori-Bioと検討を重ねた結果、IL-2 Luc LTTに用いる細胞株2H4細胞はJCRB細胞バンクに寄贈し、国内外に配布して頂くことに合意を得た。

一方、WNT会議にて免疫毒性のIATA開発を提案したが、IATA事例報告を作成するよう指示された。ただし、IL-2 Luc LTTがTG444Aに追記されたことにより、IL-2 Luc assayと組み合わせる方法が白紙となった。IATA事例報告を作成するため、IL-1 Luc assayなどの他の作用機構を有し、再現性が確保されている試験法を探している。

C-1-3. 腎毒性試験代替法の開発

腎毒性試験代替法であるヒト腎細胞3D-RPTEC(R)のTGを目指し、DRPのSPSFを11月OECDに提出した。採択の可否は2026年のWNTで決まる。

C-1-4. 初回通過効果試験代替法の開発

2024年10月、SPSF「Detailed Review Paper for *in vitro* toxicokinetics」を作成し、厚生労働省を通じてOECDへ提出した。その結果、OECD WNTにて承認された(Project 4.188)。

DRPに先んじて、DRPの元となるReview paperを作成中である。

将来的にテストガイドライン作成する際には、対象物質の選定が必須となる。そこで、一般化学物質及び農薬合わせて100物質程度について、ヒトでの小腸透過及び代謝の情報を有する化合物について、選定を行っている。

C-1-5. 眼刺激性試験代替法の開発

日本主導で進めてきた眼腐食性及び強度刺激性物質を同定するためのウシ角膜を用いる混濁度及び透過性試験法（TG437）に病理標本の利用を追記した改定案が6月に公開された。

C-1-6. TG455: VM7Luc ER TA assay に用いる VM7 Luc4E2 細胞株の品質保証

熟達度確認物質アゴニスト 14 物質及びアンタゴニスト 10 物質を用いた品質保証試験の結果、すべての物質が適用範囲に入った。現在、報告書を作成中である。

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

SPSFを提出するため、2025年9月より東野分析官及び工藤分析官（厚生労働省）、平林、小島及び協力研究者の安彦、堀にて内容を確認し、修正を経たものが、2025年11月中旬にOECDに提出された。今年各国から提出された15件のSPSFの内、日本提案は3件であった。

8 Revision of TG 497: Proposal for Incorporating a Novel *in silico* Model to Predict Skin Sensitization Hazard and Potency

9 Proposal to Include the *in silico* RSRKE1 as an Alternative to the *in chemico* Method in OECD TG 497

12 DRP on *in vitro* renal cytotoxicity assays for future creation of new TG

このうち、#8, 9に関しては、昨年度、富士フイルムから提案した SPSF: Newly Developed QSAR, Consensus Model for Predicting Skin Sensitization が不採択になったことを受け、改定版を2つに分けて再提出したものである。

D. 考察

OECD TG に関する本年度の成果は、皮膚感作性試験代替法 EpiSensA, ADRA 及び IL-8 Luc assay が GL497 (Defined Approach on Skin Sensitization) に追加収載されるとともに、免疫毒性試験 IL-2 Luc LTT が TG444A に追加収載されたことである。さらに眼腐食性及び強度刺激性物質を同定するためのウシ角膜を用いる混濁度及び透過性試験 (TG437) に病理標本に利用に関する記載が追記された。今年度も3つの我が国発の試験法をTGに収載することができた。

来年度も、皮膚感作性試験代替法 α -SENS 及び Epi2SensA の TG 収載に向け、尽力している。また、*in vitro* toxicokinetics 及び *in vitro* 腎毒性試験法などの NAM 開発の OECD 提案もなされており、継続性を重んじた活動を続けている。

E. 健康危険情報 特になし

F. 結論

2025 年の WNT 会議後に、皮膚感作性試験代替法 EpiSensA, ADRA 及び IL-8 Luc assay が GL497 (Defined Approach on Skin Sensitization) に追加収載されるとと

もに、免疫毒性試験 IL-2 Luc LTT が TG444A に追加収載された。さらに眼腐食性及び強度刺激性物質を同定するためのウシ角膜を用いる混濁度及び透過性試験 (TG437) に病理標本に利用に関する記載が追記され、9月までに OECD のホームページで公開された。

G. 来年度の計画

皮膚感作性試験代替法 α -SENS 及び Epi2SensA の TG 収載に向け、尽力する。また、*in vitro* toxicokinetics 及び *in vitro* 腎毒性試験法などの DRP を完成させる。

H. 研究発表

H-1. 論文発表

1. 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
2. 小島肇夫. NAMs の開発, Cosmetic Science, 2025;6:28-35.
3. 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
4. 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.
5. 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

G-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. 村上諒一、今村弥佳、館下正和、杉山聡、松本優香、小島肇、疋田泰士：ルールベースモデル、LLNA および GPMA 統計モデルを用いた複数の Key Event に基づく皮膚感作性 *in silico* コンセンサスモデル第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025.7.3, 沖縄)
3. 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)
4. 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)
5. Hajime Kojima, NAMs in Regulatory toxicology, Beihang University - Japan Universities Seminar on Biomedical Engineering, Biomaker and Environmental Health Collaboration(2025.10.17, Beijing, China)
6. 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)
7. 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)
8. C. Pellevoisin, H. Kojima, S. Hoffmann, T. Ashikaga, T. Landry, C. Romero, K. Guntur, M. Klausner, J. Stadnicki, H. Gehrke, R.

Mills-Goodlet, N. Panousi, V. J. Johnson, K. Narita, S. Tachibana, K. Kojima, and A. Armento: Me-Too Validation of the Epi2SensA Method Using EpiDerm Model for Skin Sensitization Testing Under OECD TG442D, 65th SOT(2026.3.25, Sandiego, USA)

- I. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)
- 1. 特許取得
特になし
- 2. 実用新案登録
特になし
- 3. その他
特になし

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ
<u>小島肇夫</u>	動物実験代替法を用いた皮膚刺激性／皮膚感受性評価の現状		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	2025	283-294
<u>小島肇</u>	コラム代替法の規制利用の現状と限界	(一社)JELF（日本環境法律家連盟）	動物共生権	民事法研究会	東京	2025	70-173

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Mitsumoto T, Ishii Y, Takimoto N, Takasu S, Namiki M, <u>Toyoda T</u> , <u>Ogawa K</u>	Evaluation of 2-isopropyl-N-2,3-trimethylbutyramide by a comprehensive toxicity study using <i>gpt</i> delta rats	Toxicol Appl Pharmacol	507	117686	2026
<u>Matsushita K</u> , Akane H, Akagi J, Morikawa T, Mizuta Y, <u>Ogawa K</u> , <u>Toyoda T</u>	Possible involvement of tubular interleukin-34 in macrophage recruitment during colistin-induced nephrotoxicity in rats	J Toxicol Sci.	51	163-172	2026
Murata Y, Akagi J, Doi Y, Iso T, Umano T, Masumura K, Matsumoto M, <u>Toyoda T</u> , <u>Ogawa K</u>	Evaluation of 13-week repeated-dose oral toxicity of zirconium(IV) butoxide in Crl:CD(SD) rats	Regulatory Toxicology and Pharmacology	164:	105968	2026
<u>Ambe K.</u>	Development of a Data-Driven Prediction Model of Adverse Drug Reactions Using Large-Scale Medical Information and Machine Learning	Biological and Pharmaceutical Bulletin.	49(2)	213-219	2026

<u>Ambe K</u> , Kinoshita K, Tokunaga J, Satake R, Murasaki W, Tohkin M, Yamada T, <u>Ashikaga T</u>	ExSERA: The Explainable Machine Learning Model for Skin Sensitization Risk Assessment	Regulatory Toxicology and Pharmacology	169	106100	2026
<u>Saito H</u> , Suga K, Fujihara K, Mutsuga M, Yokota S, <u>Nishimura T</u> , Kitajima S	Exposure to xylene early in life induces memory abnormalities of adult male mice	Exp Anim	75(2)	222-233	2026
<u>Nishimura T</u> , Okubo Y, Naota M, Suzuki Y, Suzuki M, Watanabe K, Nakazawa T, Ku wagata M, Onodera H, <u>Hirabayashi Y</u>	Challenges in the Nonclinical Safety Evaluation of Biotechnology-Derived Pharmaceuticals and Perspectives for Revision of the ICH S6 Guideline Based on Analysis of Approved Products in Japan	Translational and Regulatory Sciences	(online ahead of print)		2026
Murakami R, Imanura M, Takeshita T, <u>Kojima H</u> , Hikida Y.	Consensus model for skin sensitization assessment using a rule-based model and LLNA and GPMT statistics-based model	Computational Toxicology	34	100348	2025
<u>小島肇夫</u>	NAMsの開発	Cosmetic Science	6	28-35	2025
<u>小島肇夫</u>	EpisensAを用いた皮膚感作性試験代替法の使用判断	COSMETIC STAGE	8	68-74	2025
Ohmori K.	Oncotransformation in Bhas 42 Cell Transformation Assay by Typical Non-Genotoxic Carcinogens, PFOA and PFOS, and Time-Course Transcriptome Analysis	Biomolecules	15	1431	2025

Negoro R, Deguchi S, <u>Yamazaki D</u> , Takayama K, Fujita T	Genome edited intestine liver on a chip system for integrated intestinal hepatic drug absorption and metabolism evaluation	Sci Rep	15(1)	38609	2025
Vachiraarunwong A, Fujioka M, Alexander DB, Suzuki S, Guo R, Qiu G, Kawamura Y, Shibano K, Noura I, Praseatsook K, Akane H, Takasu S, Tsuda H, <u>Ogawa K</u> , Wanibuchi H, Gi M.	Developing a novel in vitro toxicity assay for predicting inhalation toxicity in rats	Toxicol Lett		111803	2025

厚生労働大臣 殿

機関名 国立医薬品食品衛生研究所
所属研究機関長 職 名 所長
氏 名 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 国内外で開発されOECDで公定化されるNAMを活用した試験法の行政的な受け入れに対応するための研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 安全性生物試験研究センター ・ センター長
(氏名・フリガナ) 平林 容子 ・ ヒラバヤシ ヨウコ

4. 倫理審査の状況

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

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

その他 (特記事項)

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

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

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

6. 利益相反の管理

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

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

厚生労働大臣 殿

機関名 東京農業大学
所属研究機関長 職 名 学長
氏 名 江口 文陽

次の職員の令和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 国内外で開発されOECDで公定化されるNAMを活用した試験法の行政的な受け入れに対応するための研究 (24KD2002)
3. 研究者名 (所属部署・職名) 応用生物科学部 食品安全健康学科 教授
(氏名・フリガナ) 美谷島 克宏・ミヤジマ カツヒロ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無		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	☒	☐	☒	東京農業大学	☐
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称:)	☐	☒	☐		☐

(※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。

厚生労働大臣 殿

機関名 国立医薬品食品衛生研究所

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 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 国内外で開発され OECD で公定化される NAM を活用した試験法の行政的な受け入れに対応するための研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 安全性生物試験研究センター病理部・部長
(氏名・フリガナ) 豊田 武士・トヨダ タケン

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)	☐ ☒	☐		☐
遺伝子治療等臨床研究に関する指針	☐ ☒	☐		☐
厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針	☒ ☐	☒	国立医薬品食品衛生研究所	☐
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称：)	☐ ☒	☐		☐

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

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、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：)

厚生労働大臣 殿

機関名 国立医薬品食品衛生研究所

所属研究機関長 職 名 所長

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

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無 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	☒	国立医薬品食品衛生研究所	☐
その他、該当する倫理指針があれば記入すること (指針の名称：)	☐ 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：)

厚生労働大臣 殿

機関名 国立医薬品食品衛生研究所
所属研究機関長 職 名 所長
氏 名 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 厚生労働行政推進調査事業費補助金 化学物質リスク研究事業
2. 研究課題名 国内外で開発されOECDで公定化されるNAMを活用した試験法の行政的な受け入れに対応するための研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 安全性生物試験研究センター毒性部 ・ 主任研究官
(氏名・フリガナ) 齋藤 洋克 ・ サイトウ ヒロカツ

4. 倫理審査の状況

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

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

その他 (特記事項)

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

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

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

6. 利益相反の管理

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

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

厚生労働大臣 殿

機関名 公立大学法人名古屋市立大学

所属研究機関長 職 名 理事長

氏 名 郡 健二郎

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 国内外で開発されOECDで公定化されるNAMを活用した試験法の行政的な受け入れに対応するための研究 (24KD2002)
3. 研究者名 (所属部署・職名) データサイエンス研究科 准教授
- (氏名・フリガナ) 安部 賀央里 アンベ カオリ

4. 倫理審査の状況

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

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

その他 (特記事項)

(※2) 未審査に場合は、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。

厚生労働大臣 殿

機関名 国立医薬品食品衛生研究所

所属研究機関長 職 名 所長

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

4. 倫理審査の状況

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

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

その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

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

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

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

6. 利益相反の管理

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

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

厚生労働大臣 殿

機関名 神奈川県衛生研究所
所属研究機関長 職 名 所長
氏 名 多屋 馨子

次の職員の令和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 国内外で開発されOECDで公定化されるNAMを活用した試験法の行政的な受け入れに対応するための研究 (24KD2002)
3. 研究者名 (所属部署・職名) 神奈川県衛生研究所 理化学部・ 主任研究員
(氏名・フリガナ) 大森 清美 ・ オオモリ キヨミ

4. 倫理審査の状況

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

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

その他 (特記事項)

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

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

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

6. 利益相反の管理

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

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

厚生労働大臣 殿

機関名 国立医薬品食品衛生研究所

所属研究機関長 職 名 所長

氏 名 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 国内外で開発され OECD で公定化される NAM を活用した試験法の行政的な受け入れに対応するための研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 薬理部 室長
(氏名・フリガナ) 山崎 大樹・ヤマザキ ダイジュ

4. 倫理審査の状況

	該当性の有無 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：)

厚生労働大臣 殿

機関名 国立医薬品食品衛生研究所
所属研究機関長 職 名 所長
氏 名 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 厚生労働行政推進調査事業費補助金 化学物質リスク研究事業
2. 研究課題名 国内外で開発されOECDで公定化されるNAMを活用した試験法の行政的な受け入れに対応するための研究
3. 研究者名 (所属部署・職名) 安全性生物試験研究センター毒性部 ・ 第三室長
(氏名・フリガナ) 西村 拓也 ・ ニシムラ タクヤ

4. 倫理審査の状況

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

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

その他 (特記事項)

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

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

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

6. 利益相反の管理

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

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

厚生労働大臣 殿

機関名 星薬科大学

所属研究機関長 職 名 学 長

氏 名 牛島 俊和

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。

- 研究事業名 化学物質リスク研究事業
- 研究課題名 国内外で開発されOECDで公定化されるNAMを活用した試験法の行政的な受け入れに対応するための研究 (24KD2002)
- 研究者名 (所属部署・職名) 学校法人星薬科大学 薬学部毒性学研究室 教授
(氏名・フリガナ) 小川 久美子 (オガワ クミコ)

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) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

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

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

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

6. 利益相反の管理

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

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

厚生労働大臣 殿

機関名 帝京平成大学

所属研究機関長 職 名 学長

氏 名 冲永 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。

- 研究事業名 化学物質リスク研究事業
- 研究課題名 国内外で開発されOECDで公定化されるNAMを活用した試験法の行政的な受け入れに対応するための研究 (24KD2002)
- 研究者名 (所属部局・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) 中江 大・ナカエ ダイ

4. 倫理審査の状況

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

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

その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

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

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

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

6. 利益相反の管理

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

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

厚生労働大臣 殿

機関名 山陽小野田市立山口東京理科大学

所属研究機関長 職 名 学 長

氏 名 武田 健

次の職員の令和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。

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

4. 倫理審査の状況

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

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

その他 (特記事項)

(※2) 未審査の場合は、その理由を記載すること。

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

5. 厚生労働分野の研究活動における不正行為への対応について

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

6. 利益相反の管理

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

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