

厚生労働行政推進調査事業費補助金（化学物質リスク研究事業）
OECD プログラムにおいて TG と DA を開発するための AOP に関する研究

令和 2 年度 分担研究報告書

毒性等情報収集に関する研究

研究分担者 山田 隆志

国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 安全性予測評価部 室長

研究要旨

近年、経済協力開発機構（OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development）では、有害性発現経路（AOP: Adverse Outcome Pathway）に基づいて *in silico*、*in vitro*、*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“試験の実施と評価のための戦略的統合方式（IATA: Integrated Approaches to Testing and Assessment）”及び確定方式（DA: Defined Approach）の開発が進められている。厚生労働科学研究化学物質リスク研究事業における化学物質の有害性評価の迅速化・高度化・標準化に関する研究及び化学物質の新たなリスク評価手法の開発に関する研究の成果を、AOP の開発や代替試験法の公定化、IATA のコンセプトに基づいた化学物質のリスク評価の促進、規制・ガイドラインの新設や見直し等に反映させていくためには、当該研究事業で取得された新規有害性評価系のデータをとりまとめ、化学物質情報や毒性情報などとともに統合して活用することが求められる。そこで本研究では、平成 30 年度に開始された厚生労働科学研究化学物質リスク研究事業公募型研究 4 課題について、令和元年度（平成 31 年度）の成果を中心に構築する新規有害性評価系、試験物質とその試験データ及び AOP 開発、試験法公定化などの観点から整理することとし、今後の研究開発の参考情報とする。

研究協力者

丸山多恵子

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 安全性予測評価部

井上美香

国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物
試験研究センター 安全性予測評価部

対応するため、近年 OECD（Organisation for Economic Co-operation and Development）では AOP（Adverse Outcome Pathway）に基づいて *in silico*、*in vitro*、*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 IATA（Integrated Approaches to Testing and Assessment）のコンセプトの確立へ向けた試みが進められてきた。

IATA による評価のワークフローは、現在以下のように整理されている（図1）。

A. 研究目的

試験データのない数多くの化学物質の安全性評価が大きな課題となっている。さらに、動物福祉の観点から動物実験の削減の流れも着実に進んでいる。こうした動向に

- ① 課題を設定する。規制上のニーズ、制約、許容される不確実性を整理する。
- ② 関心のある化学物質について入手可能な

既存の情報 (*in vivo*, *in vitro*, *in silico*等) を収集し、WoE (Weight of Evidence)により統合的に解析し、規制上の結論を得る。
③ 既存の情報が不十分な場合は、効率的な試験戦略を立て、新規の情報を取得し、規制上の決定を下す。

IATAの実施において、AOPは種々の情報の因果関係を明確化し、結論の導出に必要な情報の同定に役立つと期待されている。

さらにOECDでは、より透明性と客観性が高く標準化されたIATAを構築することを目的としてDA (Defined Approach)の検討が進められており、そのガイダンスを公開している。どのようなデータが必須であり、それぞれについてどのような重みづけを行うべきかが重要であり、それをサポートするのがAOPであると考えられている。

国際的には、IATAやDAの行政的な実運用へ向けて、種々のケーススタディを実施して、得られた経験・教訓を整理してガイダンスを開発する取り組みが進められている。今後は、動物実験への依存度を軽減しつつ、化学物質が発現しうるヒトへの毒性を効率的かつ高精度で予測するために、IATAやDAに基づいてヒト健康リスク評価のストラテジーを進化させる必要がある。

厚生労働科学研究化学物質リスク研究事業では、化学物質の有害性評価の迅速化・高度化・標準化に関する研究、化学物質の新たなリスク評価手法の開発に関する研究を推進し、成果をあげてきた。今後、これらの成果を、規制・ガイドラインの新設や見直し、さらには日常生活に利用される種々の化学物質のリスク評価等に反映させていくためには、当該研究事業で開発された新規有害性評価系のデータを、化学物質情報や関連物質の毒性情報などとともに統合して利活用することが求められる。そのためには、各

研究課題の成果を整理してデータを集積するとともに、体系的にデータを解析し、不足する情報の同定や研究事業で開発された評価系の有効利用による規制判断の支援や評価・試験の戦略を立てることが望まれるところである。

そこで、本研究では、厚生労働科学研究化学物質リスク研究事業公募型研究でこれまでに得られた成果の基礎試験データを集積し、IATAのコンセプトに基づいた安全性評価・審議の支援、評価・試験戦略の策定に必要な情報収集の効率化やAOP開発に役立てることを目的とする。

B. 研究方法

B.1 化学リスク研究事業総合報告書の調査

以下の平成30年度開始の厚生労働科学研究化学物質リスク研究事業〔公募型〕計4課題の令和元年度(平成31年度)報告書を入力して、毒性エンドポイントと解析の対象化学物質、評価系の構築状況ならびに試験結果を精査してExcel形式で整理した。さらに、各研究課題の分担研究について、AOPの構築とテストガイドライン化へ向けた位置づけを整理し、俯瞰する図をPowerPoint形式でまとめた。
(<http://mhlw-grants.niph.go.jp/niph/search/NIFL00.do>)

- 1) 令和元年度 化学物質の動物個体レベルの免疫毒性データ集積とそれに基づくMulti-ImmunoTox assay (MITA) による予測性試験法の確立と国際標準化 (H30-化学-一般-001)
- 2) 令和元年度 家庭用品化学物質が周産期中枢神経系に及ぼす遅発性毒性の評価系作出に資する研究 (H30-化学-一般-003)
- 3) 令和元年度 生体影響予測を基盤としたナノマテリアルの統合的健康影響評価方法の提案 (H30-化学-一般-004)

- 4) 令和元年度 血液中の核酸をバイオマーカーに用いた化学物質の高感度な有害性評価に資する研究 (H30-化学-一般-002)

C. 研究結果及び考察

C.1 各研究事業における新規有害性評価系の開発状況と AOP 開発へ向けた課題

各研究事業の分担研究ごとに、以下の項目 1) 各分担研究課題、2) 目的、3) 研究対象物質、4) 材料と方法、5) 結論、を設定し情報を整理した (4 研究課題、24 分担研究)。表 1 に一例を示す。さらにそれらを総合して AOP 開発へ向けた位置づけを整理し、課題を考察した。

“化学物質の動物個体レベルの免疫毒性データ集積とそれに基づく Multi-ImmunoTox assay (MITA) による予測性試験法の確立と国際標準化”においては、1) Multi-ImmunoTox Assay (MITA) の OECD テストガイドライン化に向けた国際 validation 試験、2) 免疫毒性化学物質のデータベース作成を行ってきた。MITA は、T 細胞及び単球のサイトカイン転写調節に及ぼす化学物質の影響をレポーター遺伝子の発光を利用して評価する *in vitro* 免疫毒性評価試験法である。そのうち IL-2 Luc アッセイについては、プロトコールならびにクライテリアの改訂によるバリデーション研究の再評価を受け、対応を進めた。さらに、転写誘導抑制を指標とした IL-1 Luc assay については、昨年度の Phase 0、I に続く Phase II として、20 物質を用いた validation 試験を終了し、良好な施設内/施設間再現性を確認できた。上記 validation 試験にて評価した 50 化学物質の validation report 作成にあたり、MITA にて評価した 60 化学物質に関して免疫毒性データを収集し免疫毒性データベースを構築した。図

2(A)には、本研究事業の各分担研究の役割分担を俯瞰する図をまとめた。

なお、免疫毒性の AOP 開発は、“OECD プログラムにおいて TG と DA を開発するための AOP に関する研究”で実施中である。

“家庭用品化学物質が周産期の中枢神経系に及ぼす遅発性毒性の評価系作出に資する研究”では、家庭用品に含まれる化学物質について、妊婦 (胎児) や小児をシグナル異常に脆弱な集団と位置づけ、生活環境レベルでの低用量暴露による遅発性の中枢神経系への影響を検討している。令和元年度は、

- (1) 発生発達期のビスフェノール類の低用量長期飲水投与による成熟後の中枢神経系への影響解析
- (2) 発生発達期の塩化トリブチルスズの低用量長期飲水投与による成熟後の神経幹細胞動態解析
- (3) 情動行動及び学習記憶行動への影響を評価するバッテリー式マウス行動評価系プロトコールの提案 : OECD Developmental Neurotoxicity と調整
- (4) 発達神経毒性情報のデータベース化 : 行動様式影響と海馬遺伝子発現解析の情報収集と整理
- (5) 液性因子への影響解析 : 血液・唾液中の小分子 RNA の抽出解析技術の構築に向け、候補となる小分子 RNA の絞り込み
- (6) 化学物質による DNA メチル化への影響を評価する細胞評価系の開発 : 定量的の向上
- (7) 行動様式及び神経幹細胞動態と関連のある小分子 RNA マーカー探索 : 胎生後期由来ニューロンを用いた神経機能影響と小分子 RNA の関連の検証

を実施した。図 2(B)に本研究事業の各分担研究の役割分担を俯瞰する図をまとめた。

各分担研究で対象とする被験物質を共通化し、遺伝子発現プロファイル、DNAメチル化影響など分子レベルでの解析及び脳神経回路イメージング解析、神経幹細胞動態解析などの神経科学的解析により、低用量化学物質の周産期暴露による成熟後マウスの行動様式への影響の機序について体系的に解明を進めており、遅発性毒性の評価系構築を進めている。OECDでは近年新しい *in vivo* 毒性試験の公定化は積極的ではないとされるが、*in vitro* 試験への代替が困難な遅発性毒性評価系について、国際的なガイドライン作出へ向けた情報発信を継続して行っている。

“生体影響予測を基盤としたナノマテリアルの統合的健康影響評価方法の提案”では、

- (1) ナノマテリアルの *in vitro* 安全性評価法の高度化と検証: ヒト 3D 皮膚再構成系による金属ナノマテリアルの一般毒性評価系の確立、共培養系を用いたナノマテリアルの遺伝毒性評価の構築及び二酸化チタンでの評価準備
- (2) AOP の確立: microRNA の挙動から、ナノマテリアル依存性、非依存性の有害性発現経路の発見、新規毒性評価指標の探索
- (3) 毒性試験データベースの作成:
ナノマテリアルの安全性に関する試験データ及び予測に有用な関連情報項目の精査
- (4) *in silico* 生体影響予測を組み合わせたナノマテリアルの統合的健康影響評価方法の構築: マイクロアレイ解析の一色法と二色法のデータ変換法の開発、機械学習における学習用サンプル情報のラベリング方法及び入力特徴量の調整と検討、機械学習用の実測データとして酸化亜鉛、

二酸化チタンの毒性試験を実施した。図 2(C)には、本研究事業の各分担研究の役割分担を俯瞰する図をまとめた。ナノマテリアルは種類が多いため、それらを用いた多面的な分担研究が進められている。しかし、AOP の開発及び *in silico* 手法を組合せた統合的評価方法の確立を加速化するためには、他の研究事業のように、被験物質の共通化、毒性エンドポイントの絞り込み、*in vivo* 毒性との関連付けが課題となる可能性がある。

“血液中の核酸をバイオマーカーに用いた化学物質の高感度な有害性評価に資する研究”では、化学物質ばく露後のマウスの血液中の核酸のうち、エクソソーム RNA の網羅的解析により、標的臓器を特定し、更に毒性発現機序の解明を目指すことで、化学物質の「次世代型」有害性評価による迅速化、高度化及び標準化を行うことを目的としている。令和元年度は、平成 30 年度に行った各種実験の至適条件をもとにエクソソーム RNA をバイオマーカーとした化学物質の次世代型安全性評価法の標準化プロトコルの作成を行なった。このプロトコルを用いて四塩化炭素投与による肝毒性を検出する新規バイオマーカーとなりうる miRNA を 42 個報告した。さらに、化学構造の基本構造は同じであるが、側鎖の違いなどによりその毒性の強さや発現する臓器に違いがあるベンゾトリアゾール類 5 物質について、マウスへのばく露実験を行ない、血清の採取及び病理組織検査用のパラフィンブロックを作製した。うち 4 種類についてはさらに、肝臓の病理組織学検査の実施及びエクソソーム RNA の次世代シーケンスによる網羅的遺伝子発現データを取得した。その結果、それぞれに特異的なバイオマーカー候補となる

small RNA の単離に成功した。図 2(D)には、本研究事業の各分担研究の役割分担を俯瞰する図をまとめた。本研究は基礎研究の段階であるが、将来、迅速な有害性評価系としての利活用、AOP 構築を検討するとなれば、分子マーカーと *in vivo* の臓器毒性の因果関係を明確化することが課題のひとつとして想定される。

各研究のAOP構築へ向けた共通の課題として、分子開始イベント（MIE: Molecular Initiating Event）情報の不足が挙げられる。MIEは化学物質と生体分子との相互作用により、毒性発現に至る最初の引き金となる反応である。OECDでのAOP開発においては必須の情報であり、例えば”Histone deacetylase inhibition leading to testicular toxicity” (AOP212)のように、MIEに関する情報はAOPのタイトルに含まれる。将来のAOP開発の促進のためには、化学物質の毒性発現に寄与する標的分子を効率的に同定する研究手法の開発が求められる。

そこで、MIEに関する情報を収集する方法を、OECD IATA Case Studies Projectの公開資料から抽出した。以下に主なものを列挙する。

In silico ツール

- OECD QSAR Toolbox v. 4.1
- Derek Nexus
- MIE Atlas
- Collaborative Estrogen Receptor Activity Prediction Project (CERAPP)
- Collaborative Modeling Project of Androgen Receptor Activity (CoMPARA)
- CDOCKER module in Discovery Studio 2018

In vitro bioactivity 試験データベース

- CompTox Chemicals Dashboard
- PubChem
- ChEMBL

これらは、MIEの候補をスクリーニングするために有用と考えられるものの、MIEを同定するためには、生物学的な妥当性・毒性との因果関係について、各研究課題で集積しているデータを詳細に解析し、標的候補分子と関連付けすることが必要である。

OECD IATA Case Studies Projectでは、令和元年度から*in silico*、*in vitro*及び関連物質の*in vivo*試験データをAOPに基づき組合せて統合的に安全性を評価するIATAの事例研究の検討が増えてきた。AOPを構成するKE (Key Event)を測定する*in vitro*試験は、毒性予測の不確実性を減少させ、信頼性を高める上で有効であると考えられている。しかし、たくさんのKEの試験データを取得すればよいわけではなく、MIEとAO(Adverse Outcome)に近いKEを測定することが重要であるという指摘がなされている。しかし、どのようにKEを選択すればよいか、どういう細胞を用いて何を測定すべきかはケースバイケースであり、考え方や留意点がまだ十分に整理されていない状況である。複雑な毒性に関連するKEを測定する*in vitro*試験をIATAに活用していくためには、*in vitro*試験法に関する技術開発だけでは不十分である。また、代謝物を評価する必要がある場合も想定され、すべての物質を*in vitro*試験で測定することは不可能であり、KEを予測する*in silico*手法の開発も必要である。新しい評価フレームワークのもとで、どのような場面でどのように用いるのかを想定しながら開発を進めていくことが重要であると考えられる。

D. 結論

毒性等情報収集では、厚生労働科学研究化学物質リスク研究事業（公募型）で実施さ

れた成果を、IATAのコンセプトに基づいた安全性評価やその基盤となるAOP開発に役立てるため、年次報告書を精査した。各研究課題の分担研究について、特にAOP開発へ向けた位置づけを整理し、課題を考察した。

E. 研究発表

E.1. 論文発表

- 1) Shigeta Y, Iso T, Inoue K, Yamada T, Hirose A, Matsumoto M. Summary information of human health hazard assessment of existing chemical substances (VI). *Bull. Natl Inst. Health Sci.* 2020, 138, 33-39.
- 2) Kawashima A, Inoue K, Yoshizaki Y, Ushida K, Kai K, Suzuki H, Takano M, Fujii S, Yabe K, Matsumoto M, Yamada T, Hirose A. Combined repeated-dose and reproductive/developmental oral toxicity of 3-methylpentane, isooctane, and isononane in rats. *Fundam. Toxicol. Sci.* 2020, 7, 259-279.
- 3) Yamazoe Y, Yamada T, Nagata K. Prediction and Characterization of CYP3A4-mediated metabolisms of azole fungicides: an application of the fused-grid template system. *Food Saf (Tokyo)*. 2020, 8, 34-51.
- 4) Rovida C, Barton-Maclaren T, Benfenati E, Caloni F, Chandrasekera PC, Chesné C, Cronin MTD, De Knecht J, Dietrich DR, Escher SE, Fitzpatrick S, Flannery B, Herzler M, Hougaard Bennekou S, Hubesch B, Kamp H, Kisitu J, Kleinstreuer N, Kovarich S, Leist M, Maertens A, Nugent K, Pallocca G, Pastor M, Patlewicz G, Pavan M, Presgrave O, Smirnova L, Schwarz M, Yamada T, Hartung T. Internationalization of read-across as a validated new approach method (NAM) for regulatory toxicology. *ALTEX*. 2020, 37, 579-

606.

- 5) 山田隆志. IATA の実践および毒性データベースと *in silico* ツールの利用から学んだ知見. フロンティア. 2020, 2(3), 133-139.
- 6) Rovida C, Escher SE, Herzler M, Hougaard Bennekou S, Kamp H, Kroese, DE, Maslankiewicz L, Moné MJ, Patlewicz G, Sipes, N, van Aerts L, White A, Yamada T, van de Water B. NAM-supported read-across: From case studies to regulatory guidance in safety assessment. *ALTEX*. 2021, 38, 140-150.
- 7) Yamazoe Y, Yamada T, Hirose A, Murayama N. Deciphering key interactions of ligands with CYP3A4-Template system. *Food Saf (Tokyo)*. 2021, 9, 10-21.
- 8) Yamada T, Kurimoto M, Hirose A, Yang C, Rathman J. Development of a new threshold of toxicological concern database of non-cancer toxicity endpoints for industrial chemicals. *Front. Toxicol.* 2021, 3, 1-9.

E.2. 学会発表

- 1) 化学物質の生殖発生毒性の新しいデータベースの開発とその特徴解析, 三浦稔, 栗本雅之, 川村智子, 牛田和夫, 井上薫, 山田隆志, 栗形麻樹子, 広瀬明彦, 第47回日本毒性学会学術大会 (2020年6月 on line)
- 2) 環境化学物質の生理学的薬物動力学 (PBPK) モデリングで使用されるパラメータの構造特異的な特性の評価, 吉田喜久雄, 明関由里子, 松本さおり, 石田誠一, 山田隆志, 第47回日本毒性学会学術大会 (2020年6月 on line)
- 3) 一般化学物質のスクリーニング評価におけるリードアクロスの適用—構造類似物質候補の収集・選択法の確立, 吉崎芳郎, 牛田和夫, 甲斐薫, 松本真理子,

- 井上薫, 山田隆志, 広瀬明彦, 第 47 回日本毒性学会学術大会 (2020 年 6 月 on line)
- 4) 一般化学物質のスクリーニング評価におけるリードアクロスの適用ーノナンー 1ーオール(C₉H₂₀O)の人健康影響評価, 牛田和夫, 甲斐薫, 吉崎芳郎, 松本真理子, 井上薫, 山田隆志, 広瀬明彦, 第 47 回日本毒性学会学術大会 (2020 年 6 月 on line)
- 5) IATA(統合的)アプローチに基づいた皮膚感作性における *in silico* 予測モデルの開発, 鈴木政晴, 安部賀央里, 頭金正博, 山田隆志, 足利太可雄, 第 47 回日本毒性学会学術大会 (2020 年 6 月 on line)
- 6) Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods (ICCVAM) Read Across Workgroup: Towards guiding principles for read-across applications, Rooney J, Lizarraga L, Yamada T, Allen D, Babich M, Daniel A, Fitzpatrick S, Garcia-Reyero N, Gordon J, Hakkinen P, Karmaus A, Kleinstreuer N, Matheson J, Mumtaz M, Rua D, Ruiz P, Scarano L, Volarath P, Patlewicz G, 9th Annual Meeting of the American Society for Cellular and Computational Toxicology (Oct. 2020, on line).
- 7) Cosmetics Europe database を使用した *in silico* 皮膚感作性予測回帰モデルの開発, 鈴木政晴, 安部賀央里, 頭金正博, 山田隆志, 足利太可雄, 日本動物実験代替法学会第 33 回大会 (2020 年 11 月 on line)
- 8) Constructing Developmental and Reproductive Toxicity Database of Chemicals, DART NIHS DB, for Integrated Approaches to Testing and Assessment (IATA), Yamada T, Miura M, Kawamura T, Ushida K, Inoue K, Kuwagata M, Katsutani

N, Hirose A, 2021 SOT Annual Meeting and ToxExpo (March. 2021, on line).

F. 知的財産権の出願・登録状況
なし

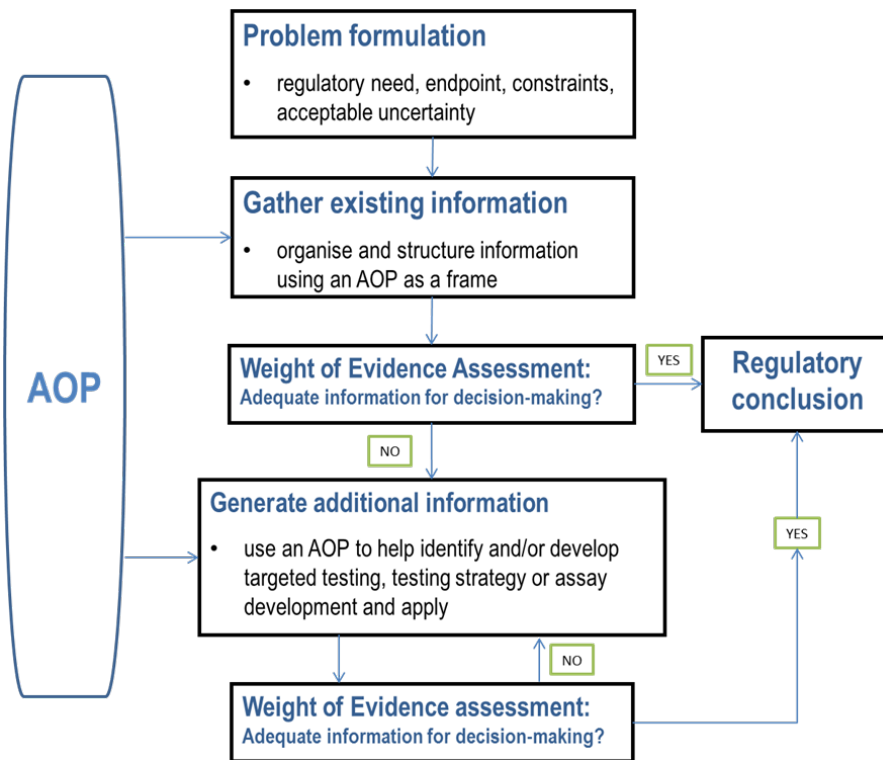


図 1 OECD が提唱する規制判断のための IATA のワークフロー

表 1 各研究事業の分担研究の情報整理の例

研究課題	化学物質の動物個体レベルの免疫毒性データ集積とそれに基づく Multi-ImmunoTox assay (MITA) による予測性試験法の確立と国際標準化 (H30-化学-一般-001)
分担研究課題	免疫毒性評価試験法 (Multi-ImmunoTox assay) 国際標準化に向けた評価法の検討
目的	MITA 試験法確立と OECD ガイドライン化: TGCHAC-4A 細胞を用いた試験法の確立を目指し、バリデーションの技術移転性の確認 (Phase0) 及び Phase1 試験の実施
研究対象物質	Phase 0 : Dapsone, Diethanolamine, p-Nitroaniline (国際バリデーション実行委員会にて選定) Phase 1 : 1 セット 5 種類のコード化した被験物質 3 セット (同委員会にて選定)
材料	IL-1β と内部標準としての G3PDH プロモーターに SLG 及び SLR ルシフェラーゼ遺伝子をそれぞれ繋いだ人工染色体発現ベクターを THP-1 細胞に導入した 2 色発光細胞株 TGCHAC-4A (THP-G1β)
方法	免疫毒性試験法における細胞培養、被験物質調製及び添加、及びルシフェラーゼアッセイ、試験結果の判定基準等については Multi-Immuno Tox Assay protocol 案 Ver.007E (Phase0) 及び Ver.008E (Phase1) に準ずる。発光の計測には多検体発光測定装置 Phelios を用いた。
結果	Phase 0 : バリデーション試験の実施 3 施設 (産総研健康工学研究部門、産総研バイオメディカル研究部門、東北大学皮膚科) の結果を比較検討した結果、良好な施設内、施設間再現性が得られ、技術移転性を確認できた。 Phase 1 : 5 物質全てにおいて、3 セットで同一の判定結果となり、良好な施設内再現性を確認した。一方、各セットにおける 1st-4th experience を確認すると、3 つの被験物質 (MIB503、MIB601、MIB602) において、N; No effect と S; Suppression の両判定があった。
結論	プロトコルの改善や判定基準の再検証を進めることにより、より正確性、再現性を向上した試験法の確立が見込まれる。

(A)

化学物質の動物個体レベルの免疫毒性データ集積とそれに基づくMulti-ImmunoTox assay (MITA) による予測性試験法の確立と国際標準化 (H30-化学-一般-001)

<平成31年度 (令和元年度) >

総括 (相場)

IL-2 Luc Assay

分担課題：免疫毒性データの集積、国際標準化へ向けてのvalidation試験の計画、国際会議の企画、進行 (小島)

バリデーション
研究の報告書作成

バリデーション実行委員会会議

IL-1β Luc Assay

被験物質

- Cadmium Chloride
- 5,5-Diphenylhydantoin Sodium salt
- Indomethacin
- Pentachlorophenol
- Urethane
- Tributyltin Chloride
- Perfluorooctanoic Acid
- Hydroquinone
- Bis(4-aminophenyl) Sulfone
- Ethanol
- 5-Nitro-2-furaldehyde
- Semicarbazone
- Trichloroethylene
- Zinc Dimethyldithiocarbamate
- Citral
- t-Butylhydroquinone
- BisphenolA
- 2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol
- Nonylphenol
- Sodium Chloride
- D(-)-Mannitol

プロトコール・クライテリア作成

分担課題：IL-1 Luc assayクライテリアの設定ならびにプロトコールの作成 (木村)

バリデーション

Phase II (20物質)

分担課題：免疫毒性評価試験法 (Multi-ImmunoTox assay) 国際標準化へ向けた評価法の検討 (安野)

分担課題：免疫毒性評価試験法Multi-ImmunoToxicity assayの国際validationへ向けての検討 (中島)

データ解析

分担課題：免疫毒性評価試験法Multi-ImmunoToxicity assayの判定アルゴリズムの検討 (大森)

国際標準化

分担課題：免疫毒性データの集積、国際標準化へ向けてのvalidation試験の計画、国際会議の企画、進行 (小島)

被験物質の送付

結果の記録確認

(B)

家庭用品化学物質が周産期中枢神経系に及ぼす遅発性毒性の評価系作出に資する研究 (H30-化学-一般-003)

<平成31年度 (令和元年度) >

総括 (種村)

被験物質

- 塩化トリブチルスズ (富永、中島)
 - ビスフェノール類
 - 1. ビスフェノールA (種村、北嶋、掛山、富永)
 - 2. 4,4'-ブチリデンビス(6-tert-ブチル-m-クレゾール) (種村、北嶋、富永)
 - 3. 2,2'-メチレンビス(6-tert-ブチル-p-クレゾール) (種村、北嶋、富永)
 - ビククリン+4-アミノピリジン (今村)
- 3年目：ピレスロイド系化合物類 (予定)

分子生物学的解析

分担課題：「網羅的遺伝子発現解析」ービスフェノールAとゴム老化防止剤であるMBMTBTおよびBBMTBTを周産期マウスに慢性飲水投与後、13週齢時の海馬における遺伝子発現プロファイルー (北嶋)

分担課題：液性因子影響 (神経内分泌) に関わる脳内分子の定量解析 (掛山)

分担課題：家庭用品化学物質暴露を感知する新規脳RNAマーカーの探索 (今村)

分担課題：化学物質の周産期暴露による中枢神経系DNAメチル化影響解析 (五十嵐)

神経科学的解析

分担課題：低用量化学物質の周産期暴露による成熟後マウスの行動様式への影響 (種村)

分担課題：脳神経回路イメージング解析 (富永)

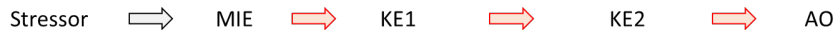
分担課題：家庭用品化学物質暴露による神経幹細胞動態解析 (中島)

神経行動学的解析

テストガイドライン

分担課題：発生-発達期における化学物質暴露影響評価に関する国際的なガイドラインの作出に向けた取り組み (菅野)

AOPスキーム



(C)

生体影響予測を基盤とした ナノ材料の統合的健康影響評価方法の提案 (H30-化学-一般-004)

<平成31年度(令和元年度)>

総括(渡邊)

被験物質

- 二酸化チタンナノ粒子(林、渡邊、花方、中江)
- 二酸化ケイ素ナノ粒子(大野)
- マグネタイトナノ粒子(BMSC-5)(戸塚)
- マグネタイトナノ粒子(BMSC-10)(戸塚)

遺伝子レベル の解析

肺: ヒト肺上皮細胞由来細胞株 A549
免疫系: ヒト白血球由来単球細胞株 THP-1
分担課題: ナノ材料による細胞内網羅的遺伝子発現データベースの構築および機械学習による生体影響予測の試み(花方)

細胞レベル の解析

肺: ヒト肺上皮細胞由来細胞株 A549
分担課題: in vitro 評価系の高度化(渡邊)

毒性影響 (in vitro)

肺: マクロファージ様 RAW 細胞とマウス肺由来の GDL1 細胞の共培養系
分担課題: 生体を模倣した in vitro 試験系を用いた遺伝毒性評価(戸塚)

(遺伝毒性)

正常ヒト表皮由来クラチンサイト NHEK を用いた単層培養系、3D ヒト皮膚再構築系

分担課題: in vitro 評価系の高度化、毒性病理学的研究監修(中江)

(細胞毒性)

分担課題: ナノ材料の特性評価(林)

分担課題: ナノ材料の使用状況、安全性などの既存情報の収集と整理(三宅)

(曝露量推定ツールの評価)

分担課題: in silico 評価系に関する研究(大野)

分担課題: in silico 評価系に関する研究(大野)

AOPスキーム

Stressor ⇒ MIE ⇒ KE1 ⇒ KE2 ⇒ AO

(D)

血液中の核酸をバイオマーカーに用いた 化学物質の高感度有害性評価に資する研究 (H30-化学-一般-002)

<平成31年度(令和元年度)>

総括(小野)

被験物質

- ベンゾトリアゾール類
- 1. 2-(benzotriazol-2-yl)-4,6-bis(2-methylbutan-2-yl)phenol(CAS#3846-71-7)(平林)
- 2. 2,4-di-tert-butyl-6-(5-chloro-2H-benzotriazol-2-yl)phenol(小野、広瀬、平林、落合)
- 3. 2-(benzotriazol-2-yl)-4,6-bis(2-phenylpropan-2-yl)phenol(小野、広瀬、平林、落合)
- 4. 2-(benzotriazol-2-yl)-4-methylphenol(小野、広瀬、平林、落合)
- 5. 2-(benzotriazol-2-yl)-4-(2,4,4-trimethylpentan-2-yl)phenol(小野、広瀬、落合)

血液

分担課題: マウスを用いたエクソソーム単離法の最適化・標準化(落谷)

肝臓・腎臓

分担課題: 化学物質ばく露影響の病理学的解析(平林)

分担課題: 化学物質のばく露実験の実施と毒性予測評価(小野、広瀬)

AOPスキーム

Stressor ⇒ MIE ⇒ KE1 ⇒ KE2 ⇒ AO

図2 各研究事業の構成と AOP スキームとの関係