

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

平成 30 年度～令和 2 年度 総合研究報告書

研究代表者 小島 肇

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

動物実験 3Rs の国際的な浸透に加えて、実験動物とヒトとの種差等の克服のために、既存の毒性試験法の見直しが進んでいる。経済協力開発機構 (OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development) においても、反復投与毒性、生殖発生毒性、感受性、発がん性などの有害性発現経路 (AOP: Adverse Outcome Pathway) を開発し、動物実験代替法 (以下、代替法) を念頭においた試験法ガイドライン (TG: Test Guideline) の公定化や *in silico* 法の確立に AOP 情報を活用している。一方で、毒性情報を網羅した “試験法と評価への統合アプローチ (IATA: Integrated Approaches to Testing and Assessment)” を開発し、それに基づく確定方式 (DA: Defined Approach) により化学物質の安全性評価を推進する戦略がある。DA とは、単独の代替法ではなく、種々の試験データを組み合わせて化学物質の全身毒性を把握しようとする試みであり、OECD では DA の行政的利用が検討されている。このような国際的な潮流に乗り、日本が得意とする分野で主導権を握って、AOP や TG を公定化し、さらには IATA や DA の TG の開発及び普及に協力することが本研究班の目的である。

OECD WNT (Working Group of the National Coordinators of the Test Guidelines Programme) 及び各国専門家との調整を経て、日本人の開発した TG 5 件 (延べ 6 件、皮膚感受性試験代替法 アミノ酸誘導体反応試験の改訂を含む) が令和 2(2020)年 6 月までに OECD にて公表された。

- 1) 光安全性試験、活性酸素種 (ROS: Reactive Oxygen Species) assay、令和元(2019)年新規 TG495
- 2) LabCyte EPI-MODEL24 を用いる腐食性試験代替法、令和元年 TG431 に追加
- 3) AR STTA 法: AR-EcoScreen™ 細胞を用いた アンドロゲン受容体恒常発現系転写活性化試験、令和 2 年改定 TG458
- 4) 眼刺激性試験 短時間曝露法、令和 2 年改定 TG491
- 5) 皮膚感受性試験代替法 アミノ酸誘導体反応試験 (ADRA: Amino acid Derivative Reactivity Assay)、令和元年 TG442C 中に追加及び令和 2 年改訂

AOP に関しては、“Inhibition of Calcineurin Activity Leading to impaired T-Cell Dependent Antibody Response (AOP154)” が日本発の AOP の一つとして、令和 2 年 12 月に OECD、EAGMST (Extended Advisory Group on Molecular Screening and Toxicogenomics) で内諾と

なった。また、ホルムアルデヒドによる鼻腔発がんの機序について、AOP の考え方に沿って網羅的に情報収集し、その包括的考察を review として国際誌に公表した。

さらに、皮膚感作性 DA (DASS: Defined Approach for Skin Sensitisation) の令和 3 (2021) 年 6 月の採択に向け、ガイドランの作成に寄与した。非遺伝毒性発がん性の IATA 開発に関する専門家会議のサブグループ及び全体会合 web 会議に参画し、アッセイ系の評価に協力すると共に、本活動の検討方針に関する論文化に貢献した。

研究分担者

相場節也

国立大学法人 東北大学
大学院医学系研究科 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
安全性予測評価部 主任研究官

大森清美

神奈川県衛生研究所
理化学部 主任研究員

尾上誠良

静岡県立大学
薬学部 薬物動態学分野 教授

小川久美子

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
病理部 部長

杉山圭一

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
変異遺伝部 部長

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 室長

西川秋佳

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 客員研究員

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
センター長

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
主任研究官

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

チョウ ヨンマン

国立医薬品食品衛生研究所
安全性生物試験研究センター
病理部 室長

A. 研究目的

動物実験 3Rs の浸透に加えて、実験動物とヒトとの種差等の克服のために、既存の毒性試験法の見直しが世界的に進んでいる。経済協力開発機構 (OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development) においても、全身毒性試験の有害性発現経路 (AOP: Adverse Outcome Pathway) を開発し、動物実験代替法を念頭においた試験法ガイドライン (TG: Test Guideline) の公定化や *in silico* 法の確立に AOP 情報を活用する一方で、AOP をベースとした毒性情報を網羅した“試験法と評価への統合アプローチ (IATA:

Integrated Approaches to Testing and Assessment) ”を開発し、それに基づき、TGと同格の扱いになる確定方式 (DA: Defined Approach)による化学物質の安全性評価を推進している。このような国際的な潮流に乗り、日本が得意とする分野で主導権を握って、AOP や TG を公定化し、さらには IATA や DA の開発に協力することが本研究班の目的である。

具体的には、化学物質の毒性情報等を集積しながら、免疫毒性、非遺伝毒性発がん性及び光安全性等に関する日本発の AOP 開発を進める。その過程を踏まえて我が国における AOP 作成マニュアルをまとめる。さらに、通常の反復投与毒性試験で採取される下垂体、甲状腺などを用いて、各種ホルモンなどの発現量の増減を免疫組織化学染色法によって半定量する評価方法の確立を目指す。また、エピジェネティック変異原性や腎毒性の作用機構の解明も行い、これらの結果を AOP 開発に反映させる。

一方、既存の AOP 情報をもとに開発された皮膚感作性試験、免疫毒性試験、発生毒性試験、光安全性試験及び腐食性試験についての TG を開発する。また、OECD での非遺伝毒性発がん IATA に、形質転換試験 Bhas42 法及びラット肝中期発がん性試験などを組み込むことを目指すと同時に、光安全性 IATA 及び皮膚感作性 DA (DASS: Defined Approach for Skin Sensitisation) の開発に関与することを通じて、IATA や DA の国内での普及に務める。

B. 研究方法

B.1. AOP の開発、AOP 国内マニュアルの作成

B.1.1. AOP国内マニュアルの作成(小島、山田)

OECD の AOP 開 発 プ ロ ジ ェ ク ト EAGMST (Extended Advisory Group on

Molecular Screening and Toxicogenomics)及び、TGの開発プロジェクトWNT(Working Group of the National Coordinators of the Test Guidelines Programme)の進捗に合わせ、班員を支援した。

この過程で、OECDの発行するAOPガイドランスを翻訳するとともに、AOP作成のルール変更に対する日本の貢献をまとめた。

B.1.2. 免疫毒性のAOP開発(小島、足利)

AOP に関しては、足利分担研究者とともに、日本免疫毒性学会会員をメンバーとする同学会試験法委員会 AOP 検討小委員会に免疫毒性 AOP の開発を委託している。

B.1.2.1. カルシニューリン阻害

Inhibition of Calcineurin Activity Leading to impaired T-Cell Dependent Antibody Response (AOP154)については、外部 reviewer からの指摘事項に基づいて AOPwiki を修正した。

B.1.2.2. 追加3件

以下3種のAOPをコーチとともに作成した。

- 1) Stimulation of TLR7/8 in dendritic cells leading to Psoriatic skin disease (AOP313)
- 2) Activation of estrogen receptor in immune cells leading to exacerbation of systemic lupus erythematosus (AOP314)
- 3) Inhibition of JAK3 leading to impairment of T-Cell Dependent Antibody Response (AOP315)

B.1.2.3. IL-1 シグナル阻害 (相場)

これまで作成してきたInhibition of IL-1 binding to IL-1 receptor leading to increased susceptibility to infection (AOP277) は、現在 EAGMST under Review (OECD Status)の状態にある。さらに内容を充実させるため関連文献を収集した。

B.1.3. 発がん性の AOP 開発 (西川、小川)

B.1.3.1. 非遺伝毒性発がん

日本製薬工業協会グループ (久田茂博士等) の協力を得て、OECD に提案した「ラットにおける非遺伝毒性発がん性 AOP に関する SPSF (Standard Project Submission Form)」の対象を絞って AOP 作成を進めた。

B.1.3.2. 鼻腔発がん

研究分担者の西川及び小川は、ラット、マウス及びハムスターに鼻腔腫瘍を誘発する化学物質に関連し、ホルムアルデヒドの発がん機序に関するデータを収集し論文を進めた。さらに、鼻腔発がん全般の AOP についても論文を準備した。

B.1.4. 光毒性 AOP の開発 (尾上)

in vitro 光化学的試験方法である ROS assay による光化学的特性及び Franz 型拡散セルを用いた化学物質の *in vitro* 皮膚内動態のデータを統合的に解析することで経皮適用化合物の光毒性リスクを効果的に予測できるかを検証し、その予測データを用いることで動物実験代替法の開発を指向した検討を実施した。ラットから摘出した皮膚を用いるとともに、動物皮膚の代わりに人工膜を活用した実験も併せて推進した。これらの検証結果を基に光毒性に関する AOP 案を作成した。

B.2. AOP 開発支援

B.2.1. 非遺伝毒性発がんの免疫組織化学染色による評価法確立 (豊田、チョウ)

【平成 30 年度】

6 週齢の SD ラット (各群雌雄 5 匹) に対し、ホルモン動態への影響が想定される計 6 物質を 4 週間反復経口投与した。対照群に加

え、1000 ppm aminotriazole (AMT) 飲水投与群、20 ppm vitamin D3 (VD3) 混餌投与群、50 ppm propylthiouracil (PTU) 飲水投与群、500 ppm phenobarbital (PB) 混餌投与群、6000/1500 ppm aminogluthetimide (AGT) 混餌投与群、10 ppm estradiol (E2) 混餌投与群の計 7 群を設定した。投与開始後 29-30 日目に解剖し、採血及び甲状腺・下垂体・副腎の重量測定ならびに病理組織学的検索を実施した。また、血清生化学検査として、T3・T4・甲状腺刺激ホルモン (TSH)・副腎皮質刺激ホルモン (ACTH)・卵胞刺激ホルモン (FSH)・黄体ホルモン (LH)・プロラクチン (PRL)・E2・プロゲステロン・テストステロンの測定を実施した。

【令和元年度】

血清生化学検査の複数の項目について、従来の測定法では検出限界以下であったため、一般財団法人残留農薬研究所・青山博昭博士の協力を得て、TSH の再測定を実施した。また、複数の投与群で血清 T4 値の有意な変動が確認されたことから、全動物の甲状腺組織標本を用いて T4 の免疫組織化学的検索を実施した。

【令和 2 年度】

従来の測定法では検出限界以下であった血清 PRL について、残留農薬研究所・青山博昭博士の協力による再測定を実施した。また、全動物の下垂体組織標本を用いて、TSH・PRL・ACTH の免疫組織化学的検索を実施した。定量解析として、下垂体前葉における TSH 陽性細胞の面積率を測定した。

B.2.2 非遺伝毒性の AOP 開発 (杉山)

AOP 開発にあたり、同 AOP への組み込みを想定したエピジェネティック毒性試験法 FLO assay の妥当性を検証する研究を実施した。

【平成 30 年度】

被験物質にオクラトキシン A を用いた。また、FLO assay の結果の妥当性を検証するために、DNA メチル化酵素への作用を検討する目的で *in vitro* メチレーションアッセイを含む追加試験も実施した。

【令和元年度】

被験物質にシトリンを用いた。また、FLO assay の結果の妥当性を検証するために、*in vitro* メチレーションアッセイも実施した。

【令和 2 年度】

被験物質にビスフェノール A を用いて、代謝活性化条件も付与した。代謝活性化には S9 mix を使用した。また、ビスフェノール A の代謝産物の 4-methyl-2,4-bis(p-hydroxyphenyl) pent-1-ene についても FLO assay を実施した。

B.2.3. 腎障害の分子メカニズムに関する研究(松下)

【平成 30 年度】

10週齢の雌雄F344ラットをそれぞれ4群(n=5)に配した後、イソフルラン深麻酔下にて片側腎(左腎臓)摘出術を施し、処置1, 2, 3及び7日後に安楽殺した。対照群には Sham処置として開腹術のみ実施し、処置3及び7日に同様に安楽殺した。細胞増殖活性の評価を実施するため、bromodeoxyuridin (BrdU) 免疫染色及びPeriodic acid-Schiff stain (PAS) の二重染色を施して、近位曲尿細管、近位直尿細管及び遠位尿細管の核をそれぞれ1000個以上カウントし、BrdU陽性細胞率を算出した。瞬間凍結サンプルからRNeasy Mini Kitによりtotal RNAを抽出し、real time RT-PCR及びmRNAマイクロアレイに供した。また雄については凍結サンプルよりmiRNeasy Mini Kitを用いてtotal RNAを抽出し、miRNAマイ

クロアレイに供した。さらにIngenuity Pathways Analysis (IPA) により変動のあった mRNAについてパスウェイ解析を実施した。

腎臓の代償性機構の雌雄差をさらに検討するため、15週齢の雌雄F344ラットをそれぞれ3群(n=5)に配し、同様に片側腎摘出術を施して処置2及び3日後の右腎臓においてBrdU陽性細胞率の算出及びreal time RT-PCRを実施した。

【令和元年度】

引き続き、IPAによりmRNA-miRNA統合解析を行い、mRNAとmiRNAの相互作用について検討した。また、化学物質誘発急性腎障害モデルラットにおける代償性肥大の分子機構を探索する目的で、6週齢の雄性SDラットに125 mg/kgのFolic acidあるいは媒体である生理食塩水を単回腹腔内投与し、組織標本を作製してHE染色及びKi67免疫染色を行った。

さらに尿細管の再生メカニズムに寄与する因子を探索するため、先行研究(Matsushita et al., Toxicol Sci. 2018;165(2):420-430)における再生尿細管のmRNAマイクロアレイデータを再解析した。

【令和 2 年度】

上記の先行研究により得られたホルマリン固定・パラフィン包埋した腎組織を用い、HE染色、PAS染色及びシリウスレッド染色を実施して急性腎障害が生じた後の尿細管の形態を詳細に解析するとともに、各種の免疫染色を実施した。

さらに腎線維化モデルラットを作製するため、6週齢の雄性SDラットを2群に配し(n=3)、左腎臓に60分の虚血処置あるいはSham処置を施して10日後に剖検した。剖検時に左腎臓を採材し、同様に病理組織学的解析及びsurvivin, SOX9, CD44, p21及びα-SMAの免疫組織学的解析に供した。

B.3. TG 開発

B.3.1. OECD 作業計画にある日本で開発された試験法（小島、相場）

B.3.1.1. 免疫毒性試験

研究分担者の相場が開発し、他の研究班でバリデーションを終了させた IL-2 を指標とした免疫毒性試験の TG を目指し、海外の専門家を招聘したバリデーション報告書の peer review を実施した。また、*in vitro* 免疫毒性試験に関する DRP (Detailed Review Paper) を国際的な専門家とともに作成した。

B.3.2. OECD 作業計画にある試験法の改定（小島）

以下の 5 試験法の採択に向け、各国の専門家と交渉した。

- 1) 光安全性試験活性酸素種（ROS : Reactive Oxygen Species） assay（尾上分担研究者との協同研究）
- 2) LabCyte EPI-MODEL24 を用いる腐食性試験代替法
- 3) ヒトアンドロゲン（AR）受容体安定トランスフェクト転写活性試験(The Stably Transfected Transactivation (AR STTA) method using the AR-EcoScreen™ cell line)TG458
- 4) 眼刺激性試験 短時間曝露法 TG491
- 5) 皮膚感作性試験代替法 アミノ酸誘導体反応試験（ADRA: Amino acid Derivative Reactivity Assay） TG442C

B.4. IATA 及び DA の開発

B.4.1. 非遺伝毒性発がん性 (NGTxC: Non Genotoxic Carcinogen) の IATA 開発 (西川、小川、大森)

非遺伝毒性発がん性 IATA 開発専門家会議の検討方針に関する論文作成について、web 会議等で討議に参加した。また、当該 IATA

における 13 のアッセイブロックの内 2 つまたは 3 つを分担し、そのサブグループ会議に参加して各アッセイ系に関する情報の整理及びランキングパラメータの付与を提案し、スプレッドシートを作成した。

B.4.2. DA の開発協力 (小島・足利)

OECD 専門家会議において、DASS の開発に協力した。

B.5. OECD プロジェクトに関わる国内専門家の管理（平林）

B.5.1. 国際情報調査

稲若協力研究者の協力を得て、日本発の試験法を国際的な TG にする重要な情報として、OECD 文書の公定化の最新状況について調査した。また、国際機関等での AOP や IATA 開発の関連情報を収集した。

B.5.2. OECD プロジェクトへの関与

日本のプロジェクトを円滑に進めるためにも、OECD の大型プロジェクトへの専門家を派遣し、情報を収集した。

B.6. 毒性等情報収集（山田）

公募型研究で実施する化学物質の毒性等の情報をとりまとめ、整理された毒性等の情報に基づき、文献や報告書の検索の効率化や AOP 開発に資するため、以下の厚労科研化学リスク研究事業公募型研究 4 課題について調査した。

- 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 MITA (Multi-ImmunoTox assay) 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)

(倫理面への配慮)

本研究は動物実験の3Rsに配慮して、動物実験委員会の承認のもとに基本指針を遵守して実施し、動物使用数や動物に与える苦痛は最小限に留めた。ボランティア及びヒト組織は使用しなかった。これらのことから、倫理的問題は無いと考える。

C. 研究結果

C.1. AOP、TG、DA の開発、AOP 国内マニュアルの作成

C.1.1. AOP国内マニュアルの作成

平成 30(2018)年まで本研究班からの提案も含む 8 本の AOP 案を日本から OECD に提案してきた。さらに平成 30 年、本研究班からの提案も含む 17 本の SPSF を提案した。その中で、13 本の「ラットにおける非遺伝毒性発がん性」に関する AOP 案を日本製薬工業協会グループの協力を得て提出した。

これらの過程を通して、AOP ガイダンスを翻訳して、班員に普及した上で、AOP 作成のルール変更に対する日本の貢献をまとめた。ただし、目標にしていた国内マニュアルはまだ完成していない。この理由として、国内マニュアルの基になる OECD における AOP ハンドブックが再改定されることになったためである。

貢献の第一は、AOPの行政的な受け入れ委への関与である。医薬品のがん原性評価の多くは、医薬品規制調和国際会議 (ICH:

International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use) がん原性試験ガイドラインに基づき、げっ歯類がん原性試験により評価されており、げっ歯類で発生が増加した腫瘍について、発癌機序を検討し、ヒトでの発がんリスクを評価する。これまでに医薬品による非遺伝毒性機序による発がんの知見が蓄積されていることから、これらの発がん機序とヒトでのリスク評価に基づいて作成された AOPは、薬理作用からげっ歯類における発癌とヒトでのリスクを予測するために有用と考えられた。しかしながら、薬理作用等のデータがほとんど無いことが多い一般化学物質の発がん性評価には医薬品とは異なるアプローチが求められる。従って、ヒトの AOP 開発を念頭におかず、ラットにおける取り組みを用いた AOP では、化学物質全般を評価対象とする OECD の枠組みには疑問が呈された。

本件を初動として、以降、EGMAST は WNT や WPHA (Working Party on Hazard Assessment) に AOP の SPSF において、規制との関連性が明記されることになった。具体的には、以下の設問が追加された。

Proposers should indicate if and how the proposed AOPs are associated to any regulatory toxicological endpoints (e.g. acute or chronic toxicity, toxicity to reproduction, developmental neurotoxicity, non-genotoxic carcinogenicity, endocrine disruption etc.). Proposers will indicate what are the potential regulatory applications of the proposed AOPs. The following elements can be considered in addressing this section:

- Is the project linking to ongoing or future projects in OECD such as Integrated Approach

to Testing and Assessment (IATA) projects [link to webpage – see case study projects] or Test Guideline development [Link to current OECD TGs - Link to TG development workplan]? (if so, please describe)

- Do the proposed AOPs complement an existing network of AOPs addressing a regulatory endpoint? (if so, please describe)
- Do the proposed AOPs identify a regulatory gap, or lack of adequate testing methods and thus:
 - Help identify candidate in vitro assay or battery of assays (if so, please describe)
 - Help standardise testing for certain endpoints (if so, please describe)

Proposers should also mention if they are aware of any indications of commitment from any organisation (e.g. government/agency/academia) to support AOP development and eventual review.

この追加により、SPSF 提出時にナショナルコーディネーターが事前に確認することになった。

もう一点、日本の AOP 開発への貢献が review システムの変更である。AOP 開発のためには、これまで EAGMST における内部 review の後に、外部 review へと進む。AOP に不慣れな日本人対応のため、EAGMST は早期に外部 review に進むべくコーチ制度と導入した。現在、免疫毒性の 3AOP に関しては、コーチとの意見交換による修正を進めている。コーチから指摘されることが多い点を挙げると、他の AOP の KE(Key Event) と共通化できるものはそうすべき、医薬品だけでなく一般化学物質がストレスナーになりうることを示すべき、KER(Key Event Relationship)に記載する evidence が不十分、などがあった。これらは、AOP のネットワーク化や IATA 構築による AOP の有用性向

上の観点から重要な指摘であり、今後新たに AOP を開発する際の参考になると思われる。

C.1.2. 免疫毒性のAOP開発

C.1.2.1. カルシニューリン阻害

Inhibition of Calcineurin Activity Leading to impaired T-Cell Dependent Antibody Response(AOP154)に関しては、OECDにおいて外部review報告書が最終化され、本AOPはOECD EAGMSTに提出された。その後9月にEAGMST verification 電話会議が開催され、「sex applicabilityをunspecificにすべき」との指摘があったため、AOPを修正した。その結果、本AOPは、OECDで承認されるために、WNT 及び Working Party on Hazard Assessment (WPHA)に提出された。

C.1.2.2. 追加 3 件

- 1) Stimulation of TLR7/8 in dendric cells leading to Psoriatic skin disease(AOP313)に関しては、OECD から指名された Dr. Julija Filipovska (Constants consulting)の指導のもと、AOP 案を修正している。
- 2) Activation of estrogen receptor in immune cells leading to exacerbation of systemic lupus erythematosus(AOP314)に関しては、Dr. Sabina Halappanavar (Health Canada) の指導のもと、AOP 案を修正している。
- 3) Inhibition of JAK3 leading to impairment of T-Cell Dependent Antibody Response(AOP315)に関しては、Dr. Tanabe Shiori (NIHS, Japan) の指導のもと、外部 review に進むため、最終確認がなされた。

C.1.2.3. IL-1 シグナル阻害

IL-1 を分子開始事象 (Molecular Initiating

Event, MIE) とする Inhibition of IL-1 binding to IL-1 receptor leading to increased susceptibility to infection(AOP277)が OECD から一定の評価を得て、最近 ICAPO(International Council on Animal Protection)が本 AOP の scientific review に関する財政的援助を申し出てくれた。本年度は、現在進行中の IL-1 Luc assay の OECD TG 化に向けて、IL-1 Luc assay が標的とする IL-1b 産生に関わる MIE に関して加筆した。

C.1.3. 発がん性の AOP 開発

C.1.3.1. 非遺伝毒性発がん

ラット肝中期発がん性試験に関して、IATA 論文内に紹介した。また、厚生労働省の職場における化学物質の発がん性スクリーニングで実施された試験結果について、実施施設における論文化による公表を推進したところ、3 施設中 1 施設は論文化を進めることとなった。

平成 30 年度に、研究代表者（小島）を介して OECD に提案し、改訂を行った 13 件のラットにおける非遺伝毒性発がん性 AOP のうち、最もヒトへの外挿性が考えられる「No.1 トリプシン阻害による膵腺房細胞腫瘍」に関する AOP について、令和元年度に日本製薬工業協会のグループとともに作成し、AOP Wiki に AOP316 として登録した。

表 1 平成 30 年度提案した発がん性 AOP

No	MIE (機序)
1	トリプシン抑制
2	Vitamin D3 受容体活性化 (Ca 恒常性化)
3	難吸収性炭水化物 (Ca 恒常性変化)
4	Sodium glucose cotransporter 1 阻害 (Ca 恒常性変化)
5	Vesicular monoamine transporter (VMTA) 阻害 (レセルピン)
6	ドパミン D2 受容体阻害
7	プロトンポンプ阻害 (高ガストリン)
8	H2 受容体阻害 (高ガストリン)
9	GLP-1 受容体活性化
10	α -glucosidase 阻害 (Ca 恒常性変化)
11	ドパミン D2 受容体阻害
12	難吸収性炭水化物 (Ca 恒常性変化)
13	ドパミン D2 受容体刺激

C.1.3.2. 鼻腔発がん

ホルムアルデヒドの鼻腔発がん機序について AOP の考え方に沿って情報収集を行い review としてまとめた。国際誌に投稿し、受理された。鼻腔発がん全般の AOP に関する論文も準備した。

C.1.4. 光毒性 AOP の開発

ラット摘出皮膚ならびに人工膜を用いた *in vitro* 皮膚透過性試験及び ROS assay により構成された新しい光安全性評価系は化合物の光毒性リスクを適切に予測可能であり、ヒトへの外挿可能性においても良い知見が得られた。特に人工膜を用いることで

達成できた *in vivo* 試験を伴わない本光安全性評価系はスループット性能の向上にも大きく寄与すると考える。

ROS assayは、令和元(2019)年6月にOECD TG495として公表された。本試験法を主軸として、光毒性に関するAOPならび光安全性評価のためのIATA構築を進めている。ICH S10において推奨されているストレテジーをベースとし、(i)被験物質の光化学的特性評価、(ii)光生物化学的特性評価、そして(iii)皮膚や眼への移行性・滞留性等体内動態評価の3段階のスクリーニングによるtiered approachを案として提示した。

C.2. AOP 開発支援

C.2.1. 非遺伝毒性発がんの免疫組織化学染色による評価法確立

C.2.1. 血清ホルモン値

令和元(2020)年度に実施した各種血清ホルモン値の測定結果においては、AMT・PTU投与群では、雌雄ともにT3・T4の有意な低下及びTSHの増加がみられ、雌ではこれに加えてPRLの増加が認められた。AGT投与群では、雌雄でTSH・ACTHの増加が、雌でT3の低下が認められた。E2投与群では、雄でT3・T4・PRLの有意な増加がみられた。

C.2.2. 臓器重量

解剖時体重及び臓器重量(甲状腺・下垂体・副腎)の測定結果においては、雄PB投与群及び雌PB/E2投与群以外の群では、対照群と比較して有意な体重増加抑制が認められた。AMT・PTU投与群では、雌雄ともに甲状腺絶対/相対重量の増加及び副腎絶対重量の低下が、雄で下垂体相対重量の増加、雌で副腎相対重量の低下がみられた。VD3投与群では、雌雄ともに下垂体絶対重量の低下と副腎相対重量の増加が観察された。AGT投

与群では、雄で下垂体絶対重量の低下と副腎相対重量の増加が、雌で甲状腺絶対/相対重量の増加が認められた。E2投与群では、雄で副腎絶対/相対重量の増加がみられた。

C.2.3. 病理組織学的検索

甲状腺・下垂体・副腎における病理組織学的所見においては、AMT・PTU・AGT投与群では、雌雄ともに甲状腺濾胞上皮細胞の肥大/過形成と濾胞の退縮、及び下垂体前葉における細胞の空胞化と肥大が高頻度に認められた。これらに加えて、AMT・PTU投与群の雌雄では副腎皮質の萎縮が、AGT投与群の雌雄では副腎皮質空胞化の増加がみられた。PB投与群では、雌雄で甲状腺濾胞上皮細胞の肥大が、雄で下垂体前葉における細胞の空胞化・肥大が認められた。

C.2.4. 免疫組織化学的検索 (甲状腺 T4)

各投与群の甲状腺におけるT4発現を、免疫染色により検索した結果、対照群では、濾胞上皮細胞の細胞質及び内腔面にT4陽性像が認められた。一方、血清T4値の有意な低下を示したAMT・PTU投与群では、雌雄ともに内腔面におけるT4発現の明らかな低下が認められた。

C.2.5. 免疫組織化学的検索 (下垂体 TSH・PRL・ACTH)

各投与群の下垂体におけるTSH・PRL・ACTH発現を、免疫染色により検索した。下垂体前葉におけるTSH陽性細胞は、血清TSH値の有意な増加を示したAMT・PTU・AGT投与群の雌雄で増加が認められ(Figure 3)、陽性面積率の増加は対照群と比較して有意であった。また、これらの陽性面積率は、各個体の血清TSHレベルと明瞭な相関関係を有することが示唆された。一方、PRL・

ACTH 発現については、各投与群で明らかな差異は認められなかった。

C.2.6. 非遺伝毒性の AOP 開発

オクラトキシン A が *FLO1* プロモーター誘導性レポーター活性及び凝集性を抑制すること、また *in vitro* で DNA メチル化酵素活性を阻害することを明らかにした。

オクラトキシン A と同様に同かび毒の構造類縁体となるシトリニンも、*FLO1* プロモーター誘導性レポーター活性及び凝集性を抑制することを FLO assay により明らかにした。

ビスフェノール A は S9 mix 処理時でのみ *FLO1* レポーター活性を抑制し、ビスフェノール A の代謝産物である 4-methyl-2,4-bis(p-hydroxyphenyl) pent-1-ene 処理時においても同様の作用が確認された。

C.2.7. 腎障害の分子メカニズムに関する研究

初年度から次年度にかけては、性成熟した雌雄のラットを用い、片側腎摘出により雌雄ともに残存腎の BrdU 陽性細胞率が上昇し、それぞれ G1/S 期及び G2/S 期移行に関与する cyclin E1 及び cyclin B1 の mRNA 発現上昇がみられた。同様の結果が 15 週齢の雌雄ラットを用いた実験においても得られた。また、mRNA マイクロアレイのデータを用いたパスウェイ解析により、雌雄ともに細胞増殖に関与する経路が活性化していた。以上の結果より、雌雄ともに腎代償性機構には細胞肥大ではなく過形成が寄与していることが示唆された。

miRNA マイクロアレイの結果、9 種類の miRNA の発現低下が認められた。腎臓の代償性肥大においても、トランスフェリン受容体 1 を介した鉄の取込みの亢進が生じている

ことが示唆された。

Folic acid を用いた急性腎障害モデルラットの腎臓において、非障害領域である皮質に Ki67 陽性を示す尿細管が増加し、FOXM1 及び cyclin E1 の mRNA 発現が亢進した。以上の結果より、化学物質誘発腎障害における代償性機構においても、FOXM1 を介した細胞増殖の亢進が寄与していると考えられた。

最終年度には急性腎障害モデルラット及び腎線維化モデルラットを用い、腎臓の障害部位で生じる尿細管再生の分子メカニズムについて検討した。

急性腎障害モデルラットに観察された再生尿細管は、虚血再灌流処置 3 日から 7 日後にかけて刷子縁の発達が認められたことから、正常に再生・再分化していることが示された。一方、急性腎障害モデルラットにみられた拡張した尿細管には刷子縁が認められなかったことから、再分化能を欠く尿細管である可能性が考えられた。腎線維化モデルラットでは、腎線維化病変における尿細管は拡張あるいは萎縮していた。よって、再生機構の破綻した尿細管の形態学的特徴は拡張あるいは萎縮であることが示唆された。

免疫組織学的解析では、急性腎障害モデルラットにみられた再生尿細管において survivin 及び SOX9 の発現が一過性に上昇し、再分化とともにそれらの発現は減少した。一方、腎線維化モデルラットにおいて、線維化病変内の拡張/萎縮尿細管に survivin の発現はほとんど認められなかったことに対し、SOX9 は高率に陽性を示した。よって、survivin 及び SOX9 は尿細管の再生機構に関与していること、さらに SOX9 の過剰・持続的な発現は線維化と関連することが示唆された。

急性腎障害モデルラットにおいて、CD44 は再生尿細管にはほとんど発現が認められ

なかったことに対し、拡張した尿細管に明らかな発現がみられた。また、腎線維化モデルラットにおいて、CD44は線維化病変内の拡張/萎縮尿細管に明らかな発現が認められた。さらにCD44は虚血再灌流処置3日後の拡張尿細管においてp21と高率に共発現していた。よって、p21は腎線維化に対して促進作用を示すことが考えられる。本研究においては、CD44は拡張した尿細管においてp21と高率に共発現していたこと、さらに線維化病変内の尿細管に発現していたことから、再生機構の破綻した尿細管に特異的に発現していることが示唆され、またその発現は尿細管傷害の直後からみられることが明らかとなった。

C.3. TG の開発

C.3.1. OECD 作業計画にある日本で開発された試験法

C.3.1.1. 免疫毒性試験

海外の専門家を招聘し、IL-2 Luc assay バリデーション報告書の peer review 報告書が完成した。

結論として、バリデーション報告書では、以下のように結論された。

We conducted the validation study of the IL-2 Luc assay among the 4 luciferase assays that comprise the MITA. The results of both Phase I and Phase II studies satisfied the acceptance criteria for the validation study. Although the predictivity could not reach 80%, it may be acceptable when considering its applicability domain and limited target. So, we would like to propose the IL-2 Luc assay for the OECD test guideline of *in vitro* immunotoxicity test.

これを受けた Peer review 報告書では、以下のように結論された。

The PRP concluded that, even though the predictive capacity was not sufficient to allow use

as a stand-alone test, the IL-2 Luc assay validation has demonstrated that the method should be acceptable as a part of IATA for the predictive screening of T-cell targeted immunotoxicity

一方、*in vitro* 免疫毒性試験は未だに OECD で採択されたことはない。このような場合、DRP を作成し、その分野の現状を報告することになっている。

そこで、DRP の開発を OECD に提案し、国際的な専門家の協力を受けて作成した。この DRP を OECD に令和 2 年秋に送ったところ、各国からの意見が寄せられた。この意見をもとに改訂を続けている。

C.3.2. OECD 作業計画にある試験法の改定

1) 皮膚感作性試験

皮膚感作性試験代替法 ADRA は、令和元年 6 月 18 日の OECD TG442C として公表された。ただし、その後、記載ミスが見つかったこと、新たな項目を追加したいとの富士フィルムの意向を受けて、11 月に SPSF を提出し、令和 2 年 4 月の WNT で内諾を得た。ADRA の Annex1 Table 1 の習熟度確認物質の中のプロピルパラベンの分子量が 110.1 から 180.2 に修正された。令和 2 年 4 月に開催された 32nd WNT 会議で改定が採択され、6 月に公表された。

引き続き、ADRA TG442C における 1)適用濃度を 1mM から 4mM に引き上げにより、偽陰性の改善が期待される。本件については、バリデーション研究を実施することになり、専門家会議での計画審議を受け、12 月より開発者の富士フィルム主導のもと、5 施設の協力を受け、12 物質を用いるバリデーション研究が別研究班で実施されている。2)混合物を評価するため、蛍光を利用した試験法の

追加については、1)の結果と合わせ、来年度に議論される。

ただし、陽性対照物質を追加する及び4性能標準物質を変更するについては、本年のTG442Cの改定を前提に議論され、令和3年4月の33rd WNT会議で改定が採択される。

2) 光安全性試験

ROS assayは、令和元年6月18日のOECD TG495として公表された。

引き続き、ROS assayを含むIATA開発に関するSPSFを11月に提出し、令和2年4月のWNTで採択を得た。

3) 腐食性試験

LabCyte EPI-MODEL24を用いる腐食性試験代替法は、令和元年6月18日のOECD TG431の中の一つとして公表された。

4) ヒトアンドロゲン (AR) 受容体安定トランスフェクト転写活性試験 (The Stably Transfected Transactivation (AR STTA) method using the AR-EcoScreen™ cell

AR-STTA TG458の改訂に向け、追加される2試験法 The AR-CALUX® method using the AR-CALUX® cell line 及びThe ARTA method using the 22Rv1/MMTV_GR-KO cell lineのpeer reviewerを務めた。

令和2年4月に開催された32nd WNT会議で3つの試験法を含むTG458改定が採択され、6月に公表された。

5) 眼刺激性試験 短時間曝露法 TG491

揮発性物質に関する適用範囲の拡大が議論され、令和2年4月に開催された32nd WNT会議で改定が採択され、6月に公表された。

C.4. IATA 及び DA の開発

C.4.1. 非遺伝毒性発がん性の IATA 開発

論文 ”Chemical carcinogen safety testing:

OECD expert group international consensus on the development of an integrated approach for the testing and assessment of chemical non-genotoxic carcinogens” は meeting reports として Archive of toxicology に掲載された。

IATA 開発について、西川研究分担者は cell transformation, indicator of oxidative stress 及び resistance of apoptosis cell death のサブグループに、小川研究分担者は cell proliferation 及び resistance to apoptotic cell death のサブグループに参画し、アッセイブロックの評価を行っている。resistance to apoptotic cell death においては、西川研究分担者は、caspases assay 及び standard H&E assay に関して、小川研究分担者は、TUNEL assay, Annexin V assay を分担し、これらに関する情報をスプレッドシートにまとめ、非遺伝毒性発がん性を評価するアッセイとしての可能性と限界について、サブグループで議論し、その内容を文書にまとめている。さらに、全体会議に参加し、他のブロックの進捗について情報収集を行った。

C.4.2. DA の開発協力

OECD 専門家会議（電話会議）で DASS の開発に寄与した。2週間に一度の電話会議で、データベースの見直しを行うとともに、DASS案をもとに、試験法の組み合わせにおける予測性、適用限界、不確実性に関する議論が進んだ。

この DASS 案について、令和3(2021)年4月に開催された33rd WNT会議で採択される予定である。

C.5. OECD プロジェクトに関わる国内専門家の管理

C.5.1. 国際情報調査

日本発の試験法を国際的なTGにする重

要な情報として、OECD文書の公定化の最新状況について調査した。また、国際機関等でのAOPやIATA開発の関連情報を収集した。

C.5.2. OECD プロジェクトへの関与

OECD の大型プロジェクトへ以下の専門家を派遣し、情報を収集した。

1) Project 4.97: EDTA Activity: Detailed Review Paper on Retinoid System

毒性部 栗形室長を専門家登録し、対応を依頼した。

2) Project 4.124: New Guidance Document on Developmental neurotoxicity (DNT) *in vitro* assays

毒性部 栗形室長、薬理部 諫田部長を専門家登録し、対応を依頼した。彼らの活動を支えるため、JaCVAM資料編纂委員会でも内容を協議した。

3) Project 4.116: Guideline on Defined Approach(es) for Skin Sensitisation

C.4.2に記載した。

4) Project 4.136: Two Defined Approaches for Ocular Irritation Predictions Based on *in vitro* Bottom-Up Approach Combined with Physico-Chemical Properties

研究代表者の小島を専門家登録し、皮膚及び眼刺激性試験専門家会議において、眼刺激性分類3×3表の開発に協力している。

5) OECD Guidance Document on the Characterisation, Validation and Reporting of PBK Models for Regulatory Purposes

小島、薬理部 諫田部長、崇城大学 石田教授、昭和薬科大 山崎教授、アステラス 田端所長を登録し、JaCVAM 資料編纂委員会が協力した。

日本より、山崎、田端の作成した2例の事例報告をガイダンスに追加できた。

C.6. 毒性等情報収集

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)。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。

各研究のAOP構築へ向けた共通の課題として、MIE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のタイトルに含められる。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。

D. 考察

D.1. AOP の開発、AOP 国内マニュアルの作成

平成 30 年まで本研究班からの提案も含む 8 本の AOP 案を日本から OECD に提案してきた。さらに平成 30 年、本研究班からの提案も含む 17 本の AOP を提案した。その中で、13 本の AOP 案は日本製薬工業協会グループの協力を得て、OECD に提案した「ラットにおける非遺伝毒性発がん性 AOP に関する SPSF」である。

結果にも示したが、本件を初動として、以降、EGMAST は WNT や WPHA に AOP の SPSF について規制との関連性の明記を求めるとともに、SPSF 提出時のナショナルコーディネーターの許可が追記された。さらに、結果にも示したが、AOP 開発のためには、EAGMST は早期に外部 review に進むべくコーチ制度と導入した。

AOP開発システムはまだ道半ばにあり、EAGMSTにおいて、Draft Guidance Document for the scientific review of Adverse Outcome Pathwaysの開発が進んでいる。

AOP開発の他の留意点として、AOPを強く支援しないKEを含めないことと、KE、KER及び生物学的妥当性の記述内容を区別することが挙げられる。KEについては明確で簡潔な定義及び測定法の正確な説明を、KERについてはストレスターによる作用を含む情報を含めてKEと区別化すること、生物学的妥当性については化学物質に依存しないものとしてKERと区別化して記述することが求められた。また、ヒトを含めて種の保存性の情報も重要である。AOP開発を効率化していくためには、計画的に必要な情報を収集すること、上記を含む様々な経験を、今後AOPを開発する国内関係者で共有することが求められる。

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評価するIATAの事例研究の検討が増えてきている。AOPを構成するKE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、特にMIEとAO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。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るべきかは、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、評価戦略と実践場面と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.2. AOP 開発支援

非遺伝毒性発がんの免疫組織化学染色による評価法確立においては、血清ホルモン値の変動を誘発する化学物質を、病理組織学的・免疫組織化学的解析によって検出できる可能性が示された。

遺伝毒性の AOP 開発においては、FLO assay が化学発がんの予測精緻化（発がん AOP）に活用できるとともに、代謝を考慮した *in vitro* エピジェネティック作用検出系として利用できる可能性を見出した。

腎障害の分子メカニズムに関する研究においては、腎臓の非障害部位における代償性肥大にはFOXO1を介した細胞増殖が寄与しており、その下流因子の発現調節にはmiRNAが関与していることが明らかとなった。また、survivin及びSOX9は尿細管の再生機構に関わるが、SOX9の過剰あるいは持続的な発現は腎線維化と関連することが示唆された。さらにCD44は再生機構の破綻した尿細管に特異的に発現しており、その発現は障害直後からみられることが明らかとなった。

以上の非遺伝毒性発がんの免疫組織化学染色による評価法確立、遺伝毒性の AOP 開発及び腎障害の分子メカニズムに関する研究いずれも、基礎研究の段階であり、残念ながら、AOP 開発に貢献できると期待されるものの、直接寄与することはできていない。これらの成果は論文としてまとめていく意向である。

D.3. TG 開発

TG458 改定は、直接日本人が関与してはいない。他国の方法が追加されて改定されたものである。このような場合でも TG の開発国としては、TG のメンテナンスも重要な仕事と考える。ADRA の例でもわかるように、

end-user に配慮した TG 改定も毎年でも必要である。

また、一昨年までに我が国の SPSF のいくつかが採択されなかった事例をもとに、TG や AOP の申請・採択を円滑に進めるため、SPSF 開発チェックリスト案を作成した。このリストをもとに、SPSF の円滑な採択が進むことを期待している。

D.4. IATA 及び DA の開発

OECD の非遺伝毒性発がん性の IATA 作成においては、アッセイ系の評価が適切になされるよう、引き続き協力を続ける必要があると考えられる。

in vivo 試験に依存しない光毒性評価系は将来的に光毒性の高い新規化合物創製に貢献すると期待され、構築した IATA 案については今後当該領域の専門家と意見交換を行いつつ、調整していく予定である。

DASS に関しては、令和 3 年 4 月の採択に向け、国際専門家との議論を通じて、ガイドランの作成に寄与した。

D.5. 情報収集

引き続き、OECD の活動の中で、日本が得意とする分野で主導権を握って、AOP や TG の公定化を円滑に進めるにあたり、各国への協力を求める。協力ばかりを求めても、支援は得られない。

そこで、他国提案の TG や AOP の採択にも協力しないといけない。他国の提案した OECD の大型プロジェクトには積極的に関与し、必要に応じた専門家の派遣は不可欠である。ただし、情報収集のみが専門家の目的でなく、日本からの情報提供も必要となる。一専門家に任せすぎない管理システムも必要である。

また、OECD の成果を我が国の行政に反映

させるため、検討を行う枠組みの構築も今後必要と考える。

E. 結論

令和元年度からの継続した活動の中、日本人の開発した TG 5 件(延べ 6 件、ADRA の令和 2 年改訂を含む)が令和 2 年 6 月までに OECD より公表された。

- 1) 光安全性試験 ROS assay、令和元年新規 TG495
- 2) LabCyte EPI-MODEL24 を用いる腐食性試験代替法、令和元年 TG431 に追加
- 3) AR STTA 法 : AR-EcoScreen™ 細胞を用いた アンドロゲン受容体恒常発現系転写活性化試験、令和 2 年改定 TG458
- 4) 眼刺激性試験 短時間曝露法、令和 2 年改定 TG491
- 5) 皮膚感作性試験代替法 アミノ酸誘導体反応試験 (ADRA)、令和元年 TG442C 中に追加、令和 2 年改訂

AOP に関しては、Inhibition of Calcineurin Activity Leading to impaired T-Cell Dependent Antibody Response (AOP154) が日本発の AOP の一つとして、令和 2 年 12 月に EAGMST で内諾となった。また、ホルムアルデヒドによる鼻腔発がんの機序について、AOP の考え方に沿って網羅的に情報収集し、その包括的考察を review として国際誌に公表した。

さらに、DASS の令和 3 年 4 月の採択に向け、ガイドランの作成に寄与した。非遺伝毒性発がん性の IATA 開発に関する専門家会議のサブグループ及び全体会合 web 会議に参画し、アッセイ系の評価に協力すると共に、本活動の検討方針に関する論文化に貢献した。

F. 健康危険情報

該当なし

G. 研究発表

G.1 論文発表

- 1) 尾上誠良, 上月裕一, 豊田明美, 笛木修, 細井一弘, 小島肇, 足利太可雄, 小野寺博志: 光毒性評価の現状と課題, *YAKUGAKU ZASSHI*, 2021; 141, 111-124.
- 2) Ono R, Yoshioka Y, Furukawa Y, Naruse M, Kuwagata M, Ochiya T, Kitajima S, Hirabayashi Y. Novel hepatotoxicity biomarkers of extracellular vesicle (EV)-associated miRNAs induced by CCl4. *Toxicol Rep.* 2020;7:685-92.
- 3) Tsuboi I, Harada T, Hirabayashi Y, Aizawa S. Dynamics of hematopoiesis is disrupted by impaired hematopoietic microenvironment in a mouse model of hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Annals of Hematology.*2020; 99(7):1515-23.
- 4) Oka SI, Chin A, Park JY, Ikeda S, Mizushima W, Ralda G, Zhai P, Tong M, Byun J, Tang F, Einaga Y, Huang CY, Kashihara T, Zhao M, Nah J, Tian B, Hirabayashi Y, Yodoi J, Sadoshima J. Thioredoxin-1 maintains mitochondrial function via mechanistic target of rapamycin signalling in the heart. *Cardiovasc Res.*2020;116(10):1742-55.
- 5) 矢野恒夫, 長谷川功紀, 佐藤龍彦, 巽光朗, 渡部直史, 藤井博史, 角永悠一郎, 樺山一哉, 深瀬浩一, 米倉義晴, 蜂須賀暁子, 平林容子. アルファ線核医学治療のための薬剤開発の考察(その4) - First-in-Human 臨床に向けた要件 - 医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス, 2020, 51(8), 364-377.
- 6) Kato Y, Yamamoto N, Hiramatsu N, Sato A, Kojima H: Inhouse Fabrication of a Reconstructed Human Cornea Epithelium Model for Use in Testing for Eye Irritation Potential, *Applied in Vitro Toxicology*, 2020;6, 99-106.
- 7) 山田 隆志, 足利 太可雄, 小島 肇, 広瀬明彦: AOP (Adverse Outcome Pathway ; 有害性発現経路) に基づいた化学物質の安全性評価へ向けたチャレンジ. *Yakugaku Zasshi.* 2020;140(4):481-484.
- 8) 小島 肇:OECD 試験法ガイドライン開発における CERI の国際貢献. *CERI NEWS*, 2020;90:2-3.
- 9) 小島 肇:AOP 及び IATA に基づく安全性評価手法の進捗. *JETOC 40 周年記念誌*, 2020;71-101.
- 10) Mizoi K, Arakawa H, Yano K, Koyama S, Kojima H, Ogihara T: Utility of Three-Dimensional Cultures of Primary Human Hepatocytes (Spheroids) as Pharmacokinetic Models. *JBiomedicines.* 2020;8(10):374.
- 11) Imamura M, Wanibuchi S, Yamamoto Y, Kojima H, Ono A, Kasahara T, Fujita M: Improving predictive capacity of the Amino acid Derivative Reactivity Assay test method for skin sensitization potential with an optimal molar concentration of test chemical solution, *J Appl Toxicol.*2021;41(2):303-329. □
- 12) Nishikawa A, Nagano K, Kojima H, Ogawa K. A comprehensive review of mechanistic insights into formaldehyde-induced nasal cavity carcinogenicity. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2021, 123, 104937.
- 13) Ishii Y, Takasu S, Grúz P, Masumura K, Ogawa K, Nohmi T, Umemura T. The Role of DNA Polymerase ζ in

- Benzo[a]pyrene-induced Mutagenesis in the Mouse Lung. *Mutagenesis*. 2021, doi: 10.1093/mutage/geab007. In press.
- 14) Nakamura K, Ishii Y, Takasu S, Ogawa K. A 90-day subchronic toxicity study of 5-methyl-2-phenyl-2-hexenal in F344 rats. *Food Chem Toxicol*. 2021, doi: 10.1016/j.fct.2021.112041. In press
- 15) Ide T, Cho YM, Oishi Y, Ogawa K. Spontaneous adenolipoma of the mammary gland in a male F344 rat. *J Toxicol Pathol*. 2021, In press.
- 16) Yasui M, Fukuda T, Ukai A, Maniwa J, Imamura T, Hashizume T, Yamamoto H, Shibuya K, Narumi K, Fujiishi Y, Okada E, Fujishima S, Yamamoto M, Otani N, Nakamura M, Nishimura R, Ueda M, Mishima M, Matsuzaki K, Takeiri A, Tanaka K, Okada Y, Nakagawa M, Hamada S, Kajikawa A, Honda H, Adachi J, Misaki K, Ogawa K, Honma M. Weight of evidence approach using a TK gene mutation assay with human TK6 cells for follow-up of positive results in Ames tests: a collaborative study by MMS/JEMS. *Genes Environ*. 2021, 43, 7. 2021. doi: 10.1186/s41021-021-00179-1.
- 17) Yamamoto E, Taquahashi Y, Kuwagata M, Saito H, Matsushita K, Toyoda T, Sato F, Kitajima S, Ogawa K, Izutsu K-i, Saito Y, Hirabayashi Y, Iimura Y, Honma M, Okuda H, Goda Y. Visualizing the spatial localization of ciclesonide and its metabolites in rat lungs after inhalation of 1- μ m ciclesonide aerosol by desorption electrospray ionization-time of flight mass spectrometry imaging. *Int. J Pharm*, 2021, 595: 120241.
- 18) Kobayashi T, Toyoda T, Tajima Y, Kishimoto S, Tsunematsu Y, Sato M, Matsushita K, Yamada T, Shimamura Y, Masuda S, Ochiai M, Ogawa K, Watanabe K, Takamura-Enya T, Totsuka Y, Wakabayashi K, Miyoshi N. *o*-Anisidine Dimer, 2-Methoxy-*N*⁴-(2-methoxyphenyl) Benzene-1,4-diamine, in Rat Urine Associated with Urinary bladder Carcinogenesis. *Chem Res Toxicol*. 2021, 34, 912-919.
- 19) Matsushita K, Ishii Y, Kijima A, Takasu S, Kuroda K, Takagi H, Nohmi T, Ogawa K, Umemura T. Background data of 2-year-old male and female F344 *gpt* delta rats. *J Toxicol Pathol*. 2021, 34, 23-31.
- 20) Yamada T, Toyoda T, Matsushita K, Cho YM, Akagi J, Morikawa T, Mizuta Y, Ogawa K. Expression of stem cell markers as useful complementary factors in the early detection of urinary bladder carcinogens by immunohistochemistry for γ -H2AX. *Arch Toxicol*. 2021, 95, 715-726.
- 21) Yamada T, Toyoda T, Ide T, Matsushita K, Morikawa T, Ogawa K. Neuromuscular and vascular hamartoma of the small intestine in an F344 rat. *J Toxicol Pathol*. 2021, 34, 113-117.
- 22) Matsushita K, Toyoda T, Yamada T, Morikawa T, Ogawa K. Specific expression of survivin, SOX9, and CD44 in renal tubules in adaptive and maladaptive repair processes after acute kidney injury in rats. *J Appl Toxicol*. 2021, 41, 607-617.
- 23) Ide T, Mizuta Y, Akagi JI, Masumoto N, Sugimoto N, Sato K, Ogawa K, Cho YM. A 90-day repeated oral dose toxicity study of four stereoisomers of 2,4-dimethyl-4-phenyltetrahydrofuran, a synthetic flavoring

- substance, in F344 rats. *Regul Toxicol Pharmacol.* 2020, 114, 104664.
- 24) Jacobs M, Colacci A, Corvi R, Vaccari M, Aguila MC, Corvaro M, Delrue N, Desaulniers D, Ertych N, Jacobs A, Luijten M, Madia F, Nishikawa A, Ogawa K, Ohmori K, Paparella M, Sharma AK, Vasseur P. Chemical carcinogen safety testing: OECD expert group international consensus on the development of an integrated approach for the testing and assessment of chemical non-genotoxic carcinogens. *Arch Toxicol.* 2020; 94: 2899-923.
- 25) Takasu S, Ishii Y, Kijima A, Ogawa K, Umemura T. Furan induced characteristic glutathione S-transferase placental form-positive foci in terms of cell kinetics and gene expression. *Toxicol Pathol.* 2020, 48, 756-65.
- 26) Nakamura, K, Ishii Y, Takasu S, Nohmi T, Shibutani M, Ogawa K. Lack of *in vivo* mutagenicity of acetamide in a 13-week comprehensive toxicity study using F344 *gpt* delta rats. *Toxicol Sci.* 2020; 177: 431-40.
- 27) Tajima Y, Toyoda T, Hirayama Y, Matsushita K, Yamada T, Ogawa K, Watanabe K, Takamura-Enya T, Totsuka Y, Wakabayashi K, Miyoshi N. A novel *o*-toluidine metabolite in rat urine associated with urinary bladder carcinogenesis. *Chem Res Toxicol.* 2020, 33, 1907-14.
- 28) Suzuki S, Gi M, Toyoda T, Kato H, Naiki-Ito A, Kakehashi A, Ogawa K, Takahashi S, Wanibuchi H. Role of γ -H2AX as a biomarker for detection of bladder carcinogens in F344 rats. *J Toxicol Pathol.* 2020, 33, 279-85.
- 29) Matsushita K, Toyoda T, Yamada T, Morikawa T, Ogawa K. Comprehensive expression analysis of mRNA and microRNA for investigation of compensatory mechanisms in the rat kidney after unilateral nephrectomy. *J Appl Toxicol.* 2020; 40: 1373-83.
- 30) Yamada T, Toyoda T, Matsushita K, Morikawa T, Ogawa K. Dose dependency of γ -H2AX formation in the rat urinary bladder treated with genotoxic and nongenotoxic bladder carcinogens. *J Appl Toxicol.* 2020, 40, 1219-27.
- 31) Furihata C, You X, Toyoda T, Ogawa K, Suzuki T. Using FFPE RNA-Seq with 12 marker genes to evaluate genotoxic and non-genotoxic rat hepatocarcinogens. *Genes Environ.* 2020, 42, 15.
- 32) Kimura Y, Yasuno R, Watanabe M, Kobayashi M, Iwaki T, Fujimura C, Ohmiya Y, Yamakage K, Nakajima Y, Kobayashi M, Mashimo N, Takagi Y, Omori T, Corsini E, Germolec D, Inoue T, Rogen EL, Kojima H, Aiba S. An international validation study of the IL-2 Luc assay for evaluating the potential immunotoxic effects of chemicals on T cells and a proposal for reference data for immunotoxic chemicals. *Toxicol In Vitro.* 2020;66:104832.
- 33) Kimura Y, Fujimura C, Imagawa T, Lupisan SP, Saito-Obata M, Saito M, Oshitani H, Aiba S. Development of a novel in vitro assay to evaluate environmental water using an IL-8 reporter cell line. *EXCLI J* 19:1054-1063:2020
- 34) Kimura Y, Fujimura C, Aiba S. The modified IL-8 Luc assay, an in vitro skin sensitisation test, can significantly improve the false-negative judgment of lipophilic sensitizers with $\log K_{ow}$ values > 3.5 *Arch Toxicol* 2020

- in press.
- 35) Iyama Y, Sato H, Seto Y, Onoue S: Strategic photosafety screening system consisting of in chemico photoreactivity and in vitro skin exposure for quinolone derivatives. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2020, 146(15), 105257.
 - 36) Seto Y, Ohtake H, Sato H, Onoue S: Phototoxic risk assessment of dermally-applied chemicals with structural variety based on photoreactivity and skin deposition. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 2020, 113, 104619.
 - 37) 尾上誠良：薬剤性光線過敏症：光生物学的特徴とリスク評価。医薬品安全性学, 2020;6(1), 1.
 - 38) 尾上誠良：薬剤性光線過敏症の原因薬剤と発生機序。薬局, 2020;71(8), 30
 - 39) 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.
 - 40) 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.
 - 41) 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.
 - 42) 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.
 - 43) 山田隆志. IATA の実践及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.
 - 44) 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.
 - 45) Yamazoe Y, Yamada T, Hirose A, Murayama N. Deciphering key interactions of ligands with CYP3A4-Template system. *Food Saf (Tokyo)*. 2021, 9, 10-21.
 - 46) 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.
- ## G.2 学会発表
- 1) 徳吉泰春, 猪山陽輔, 佐藤秀行, 世戸孝樹, 尾上誠良. *In vivo* 試験に依存しない光毒性評価法の開発：ヒトへの外挿可能性について. 日本薬剤学会第 35 年会 (2020年 5月, 熊本)

- 2) 松下幸平, 豊田武士, 山田貴宣, 森川朋美, 小川久美子. mRNA-microRNA 統合解析を用いた腎代償性メカニズムの包括的解析. 第47回日本毒性学会学術年会 (2020年6月, Web開催)
- 3) 小島 肇: 安全性評価における Replacement の概要, 第47回日本毒性学会学術年会 (2020年6月, web開催)
- 4) 鈴木政晴, 安部賀央里, 頭金正博, 山田隆志, 足利太可雄: 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, 第47回日本毒性学会学術年会 (2020年6月,web開催)
- 5) 吉田邦嵩, 石川晋吉, 橋爪恒夫, 足利太可雄: ヒト気管支上皮と抗原提示細胞の共培養系を用いた化学物質のin vitro呼吸器感作性評価法 の開発, 第47回日本毒性学会学術年会 (2020年6月,web開催)
- 6) 豊田武士, 山田貴宣, 松下幸平, 森川朋美, 小川久美子. オルト-トルイジン類似構造を持つ芳香族アミンによるラット膀胱傷害及び遺伝子発現解析. 第47回日本毒性学会学術年会 (2020年6月,web開催)
- 7) 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: 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, 第47回日本毒性学会学術大会 (2020年6月,web開催)
- 8) 吉田喜久雄, 明関由里子, 松本さおり, 石田誠一, 山田隆志: 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, 第47回日本毒性学会学術大会 (2020年6月,web開催)
- 9) 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: 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構造類似物質候補の収集・選択法の確立, 第47回日本毒性学会学術大会 (2020年6月,web開催)
- 10) 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: 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, 第47回日本毒性学会学術大会 (2020年6月,web開催)
- 11) 足利太可雄, 鈴木政晴, 安部賀央里, 栗本雅之, 山田隆志, 頭金正博: 非動物実験による皮膚感作性のリスク評価と毒性学的懸念の閾値コンセプトの開発, 第45回日本化粧品学会 (2020年6月, 誌上開催)
- 12) 小島 肇: ICH における発生毒性代替法の考え方, 第60回日本先天異常学会学術集会 (2020年7月, web開催)
- 13) 小島 肇: 化粧品安全性研究はどこまで進んでいるか -国際情報・代替法-, アレルギー成分確認方法のエキスパートセミナー/多職種ワークショップ (2020年8月, web開催)
- 14) 深井悠貴, 溝井健太, 松本映子, 小山智志, 矢野健太郎, 石田誠一, 小島 肇, 荻原 琢男: OECD/TG の cytochrome P450 誘導試験における mRNA 測定の有用性, 第27回 HAB 研究機構学術年会 (2020年9月, web開催)
- 15) Kojima H, Ishida S: Challenge of standardization in the AMED-MPS project, Global Summit on Regulatory Science (GSR20)(2020年9月, Virtual meeting)
- 16) 小林琢磨, 田島悠也, 豊田武士, 岸本真治, 松下幸平, 山田貴宣, 小川久美子, 渡辺賢二, 高村岳樹, 戸塚ゆ加里, 若林敬二, 三好規之. *o*-Anisidine 曝露ラット尿中代謝物の探索. がん予防学術大会 2020 (2020年9月, Web開催)
- 17) 松下幸平, 豊田武士, 山田貴宣, 森川朋

- 美, 小川久美子. 腎虚血再灌流障害モデルラットを用いた急性腎障害から慢性腎臓病への進展メカニズムの解明. 第 163 回日本獣医学会学術集会 (2020 年 9 月, Web 開催)
- 18) 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: Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods (ICCVAM) Read Across Workgroup: Towards guiding principles for read-across applications, 9th Annual Meeting of the American Society for Cellular and Computational Toxicology (Oct. 2020, Virtual meeting).
- 19) 小島 肇: OECD におけるコンピューターモデルの行政的な受け入れ, CBI 学会 2020 年大会 (2020 年 10 月, web 開催)
- 20) 小島 肇: 医薬品の発生毒性試験にゼブラフィッシュ試験を利用する上での期待, 問題点, 課題, 第 6 回ゼブラフィッシュ創薬研究会 (2020 年 10 月, つくば)
- 21) 豊田武士, 小川久美子. ラット膀胱粘膜における γ -H2AX 形成を指標とした芳香族アミンの膀胱傷害性及び発がん性評価. 第 79 回日本癌学会学術総会 (2020 年 10 月, 広島)
- 22) 赤木純一, 豊田武士, 小川久美子. 肝発がん物質投与ラット肝細胞における γ -H2AX 誘導と細胞増殖活性の相関. 第 79 回日本癌学会学術総会 (2020 年 10 月, 広島)
- 23) Hirabayashi Y : Radiation-induced late effects and senescence: their synergistic effects on cell-cycle related gene-expressions in the hematopoietic stem/progenitor cells, XVI Latin-American Toxicology and Chemical Safety ALATOX Congress (Nov. 2020, Virtual meeting)
- 24) Hirabayashi Y : ICH Anniversary: Summary of 30 Years and Future - Prospects in S Area with Role of Japan, 17th DIA Japan Annual Meeting 2020 - Beyond Innovation – (Nov. 2020, Virtual meeting)
- 25) 山口宏之, 押方 歩, 綿谷弘勝, 小島 肇, 竹澤俊明: 固体を含む被検物質に使用可能な Vitrigel-EIT 法の改訂手順の提案, 日本動物実験代替法学会 第 33 回大会 (2020 年 11 月, web 開催)
- 26) 三浦結美, 足利太可雄, 板垣 宏, 飯島一智: 表皮モデルと免疫細胞を組み合わせたタンパク質感作性評価システムの開発, 日本動物実験代替法学会 第 33 回大会 (2020 年 11 月, web 開催)
- 27) 西田明日香, 足利太可雄, 大野彰子, 飯島一智: 銀ナノ粒子の抗原提示細胞活性化能の解析, 日本動物実験代替法学会 第 33 回大会 (2020 年 11 月, web 開催)
- 28) 鈴木政晴, 安部賀央里, 頭金正博, 山田隆志, 足利太可雄: 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, 日本動物実験代替法学会 第 33 回大会 (2020 年 11 月, web 開催)
- 29) 赤木隆美, 村上将登, 宮崎裕美, 田口浩之, 池田英史, 加藤雅一, 山田知美, Mura S, Couvreur P, 足利太可雄, 小島 肇, 明石満: 三次元培養皮膚モデル LbL-3D Skin を用いた皮膚刺激性試験代替法のバリデーション研究, 日本動物実験代替法学会 第 33 回大会 (2020 年 11 月, web 開催)
- 30) 水町秀之, 渡辺美香, 生悦住茉友, 梶原

- 三智香, 安田美智代, 水野 誠, 今井教安, 佐久間めぐみ, 芝田桃子, 渡辺真一, 上野順子, Basketter D, Eskes C, Hoffmann S, Lehmann D, 足利太可雄, 寒水孝司, 武吉正博, 宮澤正明, 小島 肇:皮膚感作性試験代替法 Epidermal Sensitization Assay (EpiSensA)のValidation 研究(施設内再現性Phase I), 日本動物実験代替法学会 第33回大会 (2020.11.12, web開催)
- 31) 小林琢磨, 田島悠也, 豊田武士, 岸本真治, 松下幸平, 山田貴宣, 小川久美子, 渡辺賢二, 高村岳樹, 戸塚ゆ加里, 若林敬二, 三好規之. *o*-Anisidine 曝露ラット尿中代謝物の探索. 日本環境変異原学会第49回大会 (2020年11月, 静岡)
- 32) 浅野哲秀, 笠松俊夫, 北本幸子, 山本美佳, 足利太可雄, 小島 肇,:Bhas42 細胞形質転換試験法 (Bhas 42 CTA) の評価, 日本環境変異原学会第49回大会 (2020年11月, 静岡)
- 33) 野村祐介, 藤澤彩乃, 松下幸平, 豊田武士, 福井千恵, 森下裕貴, 小川久美子, 鄭雄一, 靄島由二. RNA アプタマーを利用した組織再生を促進する新規機能性医用材料の創製に関する研究. 第58回日本人工臓器学会大会 (2020年11月, 高知)
- 34) 木村裕, 藤村千鶴, 相場節也: IL-8 Luc assay (OECD442E) のクライテリアの改変とLogKow が3.5 を超える化学物質における偽陰性率の改善 (ポスター) 日本動物実験代替法学会 第33回大会 (2020年11月, web開催)
- 35) 木村裕, 安野理恵, 渡辺美香, 小林美和子, 岩城知子, 藤村千鶴, 近江谷克裕, 山影康次, 中島芳浩, 真下奈々, 岡山昂祐, 高木佑実, 大森崇, 小島肇, 相場 節也:Multi-ImmunoTox Assay (MITA) : IL-1 Luc assay バリデーション試験の結果 (ポスター) 日本動物実験代替法学会 第33回大会 (2020年11月, web開催)
- 36) 望月大吾, 世戸孝樹, 佐藤秀行, 尾上誠良: ナノエマルジョン技術による fisetin の皮膚移行性及び皮膚保護作用の向上. 日本病院薬剤師会東海ブロック・日本薬学会東海支部合同学術大会2020 (2020年11月, 大垣)
- 37) 小島 肇: 発生毒性代替法の状況と方向性について, 第2回日本生殖発生毒性フォーラム (2020年11月, web開催)
- 38) Kojima H: Establishment of the Asian Consortium for Three R's, The 26th Frontier Scientists Workshop (Dec. 2020, Virtual meeting)
- 39) 豊田武士, 松下幸平, 山田貴宣, 赤木純一, 森川朋美, 小川久美子. 腎発がん物質早期検出指標としての γ -H2AX の応用可能性: 用量相関性の検討. 第37回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2021年1月, Web開催)
- 40) 赤木純一, 曹永晩, 豊田武士, 水田保子, 井手鉄哉, 小川久美子. ラット肝臓標本を用いた肝発がん物質早期検出のためのバイオマーカーの探索. 第37回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2021年1月, Web開催)
- 41) 山田貴宣, 原田賢吾, 豊田武士, 小川久美子, 中山千里, 田川義章, 奥山学. SDラットに認められた真正半陰陽の一例. 第37回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2021年1月, Web開催)
- 42) 松下幸平, 豊田武士, 山田貴宣, 森川朋美, 小川久美子. 急性腎障害から慢性腎臓病への進展における CD44 の役割. 第37回日本毒性病理学会総会及び学術集会 (2021年1月, Web開催)
- 43) 松下幸平. 腎障害の慢性化メカニズムに

関する研究：安全性評価への応用を目指して（招待講演）. 第3回医薬品毒性機序研究会（2021年1月, web開催）

(accepted and cancel)

- 44) Kojima H: Non-animal Alternative Toxicology and Regulatory Testing: An Update from Japan. Virtual International Conference to Mark the Launch of the Society for Alternatives to Animal Testing in Sri Lanka (SAAT-SL) (Feb. 2021, Virtual meeting)
- 45) Kojima H: Current projects for systemic toxicological testings in Japan. Global Collaboration Coffee When and How We Can Stop Using Animals in Toxicology, 2021 SOT Virtual Annual Meeting (March. 2021, Virtual meeting).
- 46) Yamada T, Miura M, Kawamura T, Ushida K, Inoue K, Kuwagata M, Katsutani N, Hirose A: Constructing Developmental and Reproductive Toxicity Database of Chemicals, DART NIHS DB, for Integrated Approaches to Testing and Assessment (IATA), 2021 SOT Annual Meeting and ToxExpo (March. 2021, Virtual meeting).
- 47) Iijima K, Nishida A, Ohno A, Hirose A, Ashikaga T: Comparison of Sensitization Potentials between Silver Nanoparticles and Silver Ions using Monocytic Cell Line THP-1, 2021 SOT Virtual Annual Meeting March 2021, USA, Virtual meeting)
- 48) Ohmori K, Fukumitsu T, Nishi I, Tachibana K, Takeda K, Koyama S, Narita E, Miyakoshi J, Shinohara N: Tumor promoting potential and other effects of ultrahigh frequency electromagnetic waves and intermediated frequency electromagnetic waves using Bhas 42 cell transformation assay, BioEM2020

H. 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし