

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プロジェクトでの成果物を厚生労働行政に反映させるための研究

令和3年度 分担研究報告書

発がん性試験のIATA及びAOP開発に関する研究

研究分担者 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

研究要旨

2016年に経済協力開発機構(OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development)において、非遺伝毒性発がん物質の統合的評価手法の確立を目標とした integrated approach to the testing and assessment (IATA) of non-genotoxic carcinogens (NGTxC) の専門家グループが立ち上げられた。非遺伝毒性発がん性の機序に関連する事象を抽出し、それぞれの事象を主に *in vitro* の試験系で評価する方法とその妥当性について、議論が継続されている。本研究では、当該 IATA 開発に協力すると共に、発がん性の有害転帰経路 (Adverse Outcome Pathway: AOP) の開発、並びに生体における発がん機序に関する調査研究を実施し、化学物質のヒト発がん性に関する適切な評価を推進し、以て、日本の厚生労働行政に資することを目的としている。

各種化学物質暴露による鼻腔発がん全般の AOP について論文化に必要な情報を収集し、げっ歯類における化学物質誘発鼻腔発がんを網羅的に解析したところ、各種鼻腔腫瘍の前駆病変は、遺伝毒性の有無に関係なく、腫瘍タイプの化学物質誘発性の細胞毒性与一般的に関連している可能性があり、分子開始イベント後の経路は、遺伝毒性発がん物質と非遺伝毒性発がん物質の間で大きく重複している可能性が示唆された。

また、OECD で進められている非遺伝毒性発がん性の IATA 開発に協力し、cell proliferation、resistance to apoptotic cell death、cell transformation、indicator of oxidative stress 及び resistance of apoptosis 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た。新規評価法としては、米国環境保護庁(Environmental Protection Agency: EPA)の Dr. Chris Corton による eSTAR (Emerging Systems Toxicology for the Assessment of Risk)に関する webinar があり、肝発がんにおいては、AhR, CAR, ER, PPARα の活性及び cytotoxicity が非遺伝毒性発がん性の分子開始イベント(Molecular Initiating Event: MIE)として利用可能との提案があった。さらに、オランダ ライデン大学の Dr. Bob van de Water による weighted gene co-expression network analysis (WGCNA)に関する webinar では、TXG-MAPr webtool を用いた初代ヒト肝細胞のストレス応答遺伝子共発現分析について紹介があり、非遺伝毒性発がん物質と遺伝毒性発がん物質で誘導される遺伝子発現パターンの相違について、これらのデータの利用が提案された。IATA 開発においては、新規アッセイ法の有用性について注視すると共に、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た。

研究協力者

西川秋佳

国立医薬品食品衛生研究所

病理部 客員研究員

A. 研究目的

2016年に経済協力開発機構（OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development）において、非遺伝毒性発がん物質の統合的評価手法の確立を目標とした integrated approach to the testing and assessment (IATA) of non-genotoxic carcinogens (NGTxC) の専門家グループが立ち上げられた。非遺伝毒性発がん性の機序に関連する事象を抽出し、それぞれの事象を主に *in vitro* の試験系で評価する方法とその妥当性について、議論が継続されている。本研究では、当該 IATA 開発に協力すると共に、発がん性の有害転帰経路（Adverse Outcome Pathway: AOP）の開発、並びに生体における発がん機序に関する調査研究を実施し、化学物質のヒト発がん性に関する適切な評価を推進し、以て、日本の厚生労働行政に資することを目的としている。

B. 研究方法

B.1. 発がん性の AOP 開発

研究分担者小川は、研究協力者西川の協力を得て、ホルムアルデヒド誘発鼻腔発がん機序に関する論文に引き続き、各種化学物質暴露による鼻腔発がん全般の AOP について論文化に必要な情報を収集し、それらを解析した。ラット、マウス、ハムスターに鼻腔腫瘍を誘発する化学物質について、PubMed の文献に加えて、NTP、IARC、日本バイオアッセイ研究センターのデータベースを使用して抽出し、誘発された鼻腔腫瘍について、動物種、投与経路、組織

型などを分類した。また、関連する非腫瘍性病変及び遺伝毒性のデータについても抽出し、腫瘍発生経路の推定をおこなった。B-2. 非遺伝毒性発がん性の IATA 開発への協力

非遺伝毒性発がん性 IATA 開発専門家の web 会議に参加し、開発方針に関する議論及び最新の評価方法に関する webinar に参加した。全体会合に加えて、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も参加し、現在あるアッセイの利用に関する考え方など論文化について検討した。

（倫理面への配慮）

該当なし

C. 研究結果

C.1. 発がん性の AOP 開発

網羅的に情報収集した鼻腔発がん物質のうち 40 種の吸入暴露による発がん物質（ラット 38 物質、マウス 11 物質、ハムスター 5 物質）及び 38 種の非吸入暴露による発がん物質（ラット 36 物質、マウス 5 物質、ハムスター 17 物質）について誘発された鼻腔腫瘍を、国際統一毒性病理用語・診断基準（International Harmonization of Nomenclature and Diagnostic Criteria: INHAND）に基づいて分類した結果、扁平上乳頭腫、扁平上皮癌、腺腫、腺癌、腺扁平上皮癌、神経上皮癌、未分化癌、非特異的な癌、線維肉腫、血管腫、血管肉腫、粘表皮腫、横紋筋腫、横紋筋肉腫が報告されていた。最も高頻度の鼻腔腫瘍は扁平上皮癌であり、投与経路に関係なく認められ、その前駆病変として、扁平上皮化生及び/または扁平上皮乳頭腫と呼吸上皮過形成が示唆された。2 番目に多いのは腺癌であり、その前駆病変として主に嗅上皮過形成が示唆されたが、腺腫の前駆病変は

呼吸上皮病変と考えられた。これらの経路はげっ歯類間で共通していると考えられるが、マウスまたはハムスターのデータは限定的であった。

C.2. 非遺伝毒性発がん性の IATA 作成への協力

OECD で進められている非遺伝毒性発がん性の IATA 開発に協力した。平成 30 年 6 月の会議において、非遺伝毒性発がん性に係る試験・検査のパラメータを優先順位に関して 4 つのカテゴリーに分けることになった。また、候補となるアッセイを 13 のブロックに分けて、分担してレビューしている。

IATA 開発について、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、西川研究協力者は cell transformation, indicator of oxidative stress 及び resistance of apoptosis 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た。cell proliferation においては、細胞増殖の評価に関する *in vitro/ex vivo/short term in vivo assay* の非遺伝毒性発がん性のキーイベントとしての網羅的文献検索、オミックス解析の利用の可能性、規制への応用の可能性などを内容とする論文作成について議論された。

新規評価法としては、米国環境保護庁 (Environmental Protection Agency: EPA) の Dr. Chris Corton による eSTAR (Emerging Systems Toxicology for the Assessment of Risk)に関する webinar があり、肝発がんにおいては、AhR, CAR, ER, PPAR α の活性及び cytotoxicity が非遺伝毒性発がん性の分子開始イベント (Molecular Initiating Event: MIE) として利用可能との紹介があった (Corton JC, et al., *Toxicol Sci*, 177; 11-26, 2020)。また、オランダ ライデン大学の Dr. Bob

van de Water による weighted gene co-expression network analysis (WGCNA)に関する webinar があり、TXG-MAPr webtool (available at https://txgmapr.eu/WGCNA_PHH/TGGATEs_PHH/) を用いた初代ヒト肝細胞のストレス応答遺伝子共発現分析について紹介があった (Callegro G et al., *Archive Tox*, 95; 3745-75, 2021)。非遺伝毒性発がん物質と遺伝毒性発がん物質で誘導される遺伝子発現パターンの相違について、これらのデータを比較することも有用と考えられた。

D. 考察

D.1. 発がん性の AOP 開発

げっ歯類における化学物質誘発鼻腔発がんの網羅的解析結果は、各種鼻腔腫瘍の前駆病変は、遺伝毒性の有無に関係なく、腫瘍タイプの化学物質誘発性の細胞毒性と一般的に関連している可能性があり、分子開始イベント後の経路は、遺伝毒性発がん物質と非遺伝毒性発がん物質の間で大きく重複している可能性が示唆された。

D.2. 非遺伝毒性発がん性の IATA 開発への協力

OECDの非遺伝毒性発がん性のIATA開発においては、新規アッセイ法の有用性について注視すると共に、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た。

E. 結論

E.1. 発がん性の AOP 開発

げっ歯類における化学物質誘発鼻腔発がんの網羅的解析は、化学物質によって誘発される鼻腔腫瘍の病因の包括的な理解に貢献し、細胞毒性から鼻腔腫瘍発生に至る

AOPの解明、及び非遺伝毒性発がん物質の IATA開発などのOECDの活動に資するものと考えられた。

E.2. 非遺伝毒性発がん性の IATA 開発への協力

OECD の非遺伝毒性発がん性の IATA 開発に引き続き協力していくことが必要と考えられた。

F. 研究発表

F.1. 論文発表

1. 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. doi: 10.1016/j.yrtph.2021.104937.
2. Nishikawa A. Perspectives on the elimination of animal assays in the assessment of carcinogenicity. Regul Toxicol Pharmacol. 2021; 126:105031. doi: 10.1016/j.yrtph.2021.105031.

F.2. 学会発表

該当なし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

該当なし

2. 実用新案登録

該当なし

3. その他

該当なし