

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
（課題番号：22KD1002） 分担研究報告

試験法の行政利用に向けた国際動向調査

研究分担者：小島 肇 国立医薬品食品衛生研究所 食品添加物部 特別研究員

研究要旨

本研究の目的は、ヒト人工多能性幹細胞 (iPS: Induced pluripotent stem cell)細胞由来神経細胞を用いて、人工知能 (AI: Artificial Intelligence) による細胞形態評価と多点電極アレイ (MEA: MicroElectrode Arrays) による神経機能評価を組み込んだ人体模倣システム (MPS: Microphysiological system) を開発し、予測性が高い新たな神経毒性評価法を確立することである。メカニズムベースの神経毒性評価が可能となり、化審法・毒劇法の化学的基盤の確立に資するとともに、将来的には神経毒性試験のガイドライン化を目指している。本研究班の中で、試験法の行政利用の視点で、開発の現状に関する発表および情報交換、情報収集を行うとともに、本研究班おける情報発信を担当した。

今年度、経済協力開発機構 (OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development)にて開発中の *in vitro* DNT (Developmental Neurotoxicity) ガイダンス文書の意見募集に対応し、本ガイダンスの公定化に寄与した。

A. 研究目的

本研究の目的は、ヒト人工多能性幹細胞 (iPS: Induced pluripotent stem cell)細胞由来神経細胞を用いて、人工知能 (AI: Artificial Intelligence) による細胞形態評価と多点電極アレイ (MEA: MicroElectrode Arrays) による神経機能評価を組み込んだ人体模倣システム (MPS: Microphysiological system) を開発し、予測性が高い新たな神経毒性評価法を確立することである。メカニズムベースの神経毒性評価が可能となり、化審法・毒劇法の化学的基盤の確立に資するとともに、将来的には神経毒性試験のガイドライン化を目指している。本研究班の中で、試験法開発の現状に関する発表および情報交換、情報収集を行うとともに、本研究班おける情報発信を担当した。

B. 研究方法

B-1. OECD 対応

経済協力開発機構 (OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development)にて開発中の *in vitro* DNT (Developmental Neurotoxicity) ガイダンス文書の2回目にあたる意見募集に対応した。本意見は、日本動物実験代替法評価センター (JaCVAM: Japanese Center for the Validation of Alternative Methods) 資料編纂委員会の協力を得て取り纏め、OECD の日本のナショナルコーディネートに提出した。

B-2. 国内外の学会対応

情報収集のため、国内学会としては、日本毒性学会年会、日本動物実験代替法学会大会、日本薬理学会年会、日本薬学会年会

に参加した。国際学会としては、3rd Asian Congress for Alternatives to Animal Experimentsに参加した。

倫理面への配慮

実験を伴わないことから、倫理的問題は無いと考える。

C. 研究結果

C-1. OECD 対応

本ガイダンスの改善点・懸念点として、*in vitro* テストバッテリーにおいて観察された神経細胞の分化や神経突起の伸長への影響の生物学的な意味づけの限界、そして *in vivo* 試験において観察された行動異常との対応の限界について記載する必要性についてコメントを返した。

また、このガイダンスをもとに試験法ガイドラインが作られることを求めた。

C-2. 国内外の学会対応

C-2-1. 第49回日本毒性学会学術年会（令和4年7月）

神経毒性試験に関しては、以下のワークショップ及びシンポジウムに関連発表があった。

ワークショップ“創薬・開発安全性研究を牽引する *in vitro* 研究の現状”

- 1) 培養神経細胞及び Microelectrode array を利用した薬物誘発痙攣予測に関わる検討 ～ラット初代培養神経細胞 vs ラット *in vivo* モデル / 臨床 小田原 あおい（エーザイ株式会社）

シンポジウム“精度の高い発達神経毒性評価を目指した研究アプローチ”

- 1) これからの発達神経毒性評価のための自動行動解析アプローチ
ベナー 聖子（浜松医科大学 医学部精神医学講座）
- 2) 動物モデルを用いた環境化学物質の発

達神経毒性評価：自動行動解析の毒性試験への適用

前川 文彦（国立環境研究所環境リスク・健康領域）

- 3) 動物モデルを用いた環境化学物質の発達神経毒性評価：毒性エンドフェノタイプ

掛山 正心^{1,2}（1 早稲田大学人間科学学術院, 2 早稲田大学総合研究機構環境医科学研究所）

- 4) 神経系の発達過程に着目した神経発達毒性の *in vitro* アプローチ

伊藤 智彦（国立研究開発法人国立環境研究所）

C-2-2. 日本動物実験代替法学会第36回大会（令和4年11月）

本研究班の安彦行人代表研究所および諫田泰成研究分担者を座長とするシンポジウム“発達神経毒性の現状と今後の課題”が企画され、以下の発表があった。

- 1) *In vitro* 神経活動に基づいた化学物質の神経毒性評価

鈴木 郁郎（東北工業大学大学院 工学研究科）

- 2) 化学構造情報を用いたリードアクロスによる発達神経毒性の評価

吉成 浩一（静岡県立大学 薬学部）

- 3) ゼブラフィッシュを用いた発達神経毒性評価の現状と課題

西村 有平（三重大学大学院医学系研究科 統合薬理学）

- 4) インビトロ神経毒性評価法の現状と課題

諫田 泰成、安彦 行人（国立医薬品食品衛生研究所）

また、シンポジウム“ヒト iPS 細胞技術を活用した創薬応用研究の最前線”において、以下の関連演題が見受けられた。

- 1) 創薬応用を目指した iPS 細胞由来血液

脳関門モデルの開発

坂下 真大 (名古屋市立大学大学院 薬学研究科)

- 2) サルおよびヒトの多能性幹細胞を用いた脳オルガノイド研究
小坂田 文隆 (名古屋大学大学院 創薬科学研究科 細胞薬効解析学分野)

るヒト血液喚問 MPS の開発と創薬応用に向けた取り組み

降幡友己 (東京薬科大学)

- 2) ヒト iPS 細胞由来心筋・神経細胞を用いた安全性研究への応用と MPS 実装への期待
谷口智彦 (エーザイ)

C-2-3. 第 96 回日本薬理学会年会(令和 4 年 11-12 月)

シンポジウムやワークショップなどにおいて、関係する発表を見つけられなかった。

C-2.4. 3rd Asian Congress for Alternatives to Animal Experiments (令和 4 年 12 月)

神経毒性試験に関しては、以下のシンポジウムに関連発表が見受けられた。

S2: Novel *in vitro* test:

Development and application

- 1) Current status and future challenges of developmental neurotoxicity
Yasunari Kanda (NIHS)

S6: Zebrafish as an alternative model for toxicology

- 1) Disease modeling of rare neurological disorders in zebrafish
Cheol-Hee Kim (Chungnam National Univ., Korea)

S8: Organ-on-a-chip as an alternative model for drug screening

- 1) Brain-on-a-chip for neurotoxicity tests
Sungho Ko (CHA Univ., Korea)

C-2-5. 日本薬学会第 143 回年会 (令和 5 年 3 月)

一般シンポジウム S03 生体模システム/MPS 研究最前線：産学で描く創薬実装に向けた道標において、以下発表がなされていた。

- 1) 産学共同研究 B4-Research Alliance によ

D. 考察

OECD からの意見募集 (*in vitro* DNT ガイダンス文書) に関しては、前回のコメント募集の際に主張した部分の反映や改善がなされている記述も多くあったが、現行の *in vivo* 試験との対応や、解決すべき課題についての言及で未だ不十分な記載が多かった。*in vivo* 試験と *in vitro* 試験で行われる評価手法と得られる結果のブリッジングについては、さらに議論を深める必要があることを繰り返し訴えていく必要があると感じた。

国内外の学会においては、本研究班に関するシンポジウムや発表が見受けられたが、いずれも研究段階のものばかりであり、標準化を目指せる段階の発表は少なかった。

E. 結論

OECD にて開発中の *in vitro* DNT ガイダンス文書の意見募集に対応し、本ガイダンスの公定化に寄与した。

F. 研究発表

F-1. 論文発表

1. Piersma AH, Baker NC, Daston GP, Flick B, Fujiwara M, Knudsen TB, Spielmann H, Suzuki N, Tsaioun K, Kojima H: Pluripotent stem cell assays: Modalities and applications for predictive developmental toxicity, *Current Research in Toxicology*, 2022;3, 100074.
2. Anklam E, Bahl MI, Ball R, Beger RD,

Cohen J, Fitzpatrick S, Kojima H, et al. Emerging technologies and their impact on regulatory science. *Exp Biol Med* (Maywood). 2022;247(1):1-75.

F-2. 学会発表

1. 小島肇: MPS の標準化のための国際戦略, 第 29 回 HAB 研究機構学術年会 (2022.5.19, 東京)
2. Kojima H: Approach to New Approach Methods developed by Japan in OECD WNT, ICCA-LRI Workshop 2022 (2022.6.20-21, 横浜)
3. 小島肇: 3Rs を取り巻く国際動向と課題, 第 49 回日本毒性学会学術年会 (2022.7.2, 札幌)
4. 小島肇: 医薬品等の薬効及び安全性評価を支える in vitro 試験の未来, 日本組織培養学会第94回大会 (2022.7.8 豊中, 大阪)
5. 小島肇: 代替法に関する国内外の状況について代替法全般の最新動向, 日本動物実験代替法学会企画委員会主催講習会 (2022.8.25, Virtual)
6. 小島肇: OECD テストガイダンス作成の経験から見たツールガイダンス整備の課題, 日本学術会議公開シンポジウム (2022.11.19, 東京)
7. 小島肇: Computational Toxicology の利用の実際と将来展望, 第 96 回日本薬理学会年会 (2022.11.30, 横浜)

