

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5年度 分担研究報告書

Bhas42細胞形質転換試験法のTG開発に関する研究

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、化学物質の非遺伝毒性発がん性を遺伝毒性発がん性と区別して検出できる OECD 唯一の試験法（GD231）である。OECD では、化学物質の非遺伝毒性発がん性（NGTxC）検出を目的とした IATA（OECD NGTxC・IATA）開発が 2016 年から行われており、2020 年に Expert working group として NGTxC・IATA 構築の方針を国際合意したレビュー論文を公表した。Mode of action（MoA）を構成する各 Key event およびそれらに対応した 13 の Assay block において、各種試験法の選出、Assay description の作成および評価を実施し、Bhas 42 CTA を含む“Cell Transformation”（Block 3）および、わが国でも NGTxC 検出法として研究されてきた“Gap Junction”（Block 4）を担当し、Assay の選出および評価を行った。その結果、令和3年度までに Block 3 は Bhas 42 CTA を含む 3 種の Cell transformation assay（CTA）がランク A に評価され、Bhas 42 CTA のメカニズムに関する論文も公表した。また、令和4年度には、Block 3 でランク A の 3 種の CTA（SHE CTA、Bhas 42 CTA、Balb 3T3 CTA）のレビュー論文を公表し、Bhas 42 CTA は NGTxC のメカニズム解明および NGTxC・IATA 構築における CTA の貢献を担う Assay としても重要な位置づけであることが示された。そこで、令和5年度は、Bhas 42 CTA の OECD における TG 化作業開始の承認をうけるため、SPSF（Standard Project Submission Form）の原案を作成した。

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を遺伝毒性発がん性と区別して検出できる OECD 唯一の試験法（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 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 の NGTxC・IATA 構築への貢献に基づき、Bhas 42 CTA の OECD テストガイドライン（TG）の開発に繋げることを目的とする。

B. 研究方法

OECD では、NGTxC・IATA の開発が 2016 年から行われている。NGTxC・IATA では 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 としてレビュー論文を公表している。その NGTxC・IATA のレビューに従い、発がんモデルと AOP にもとづく 13 の Key event に対応する 13 の Assay block を立ち上げ、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とりまとめ Assay description を作成および評価を行うこととした。各 Assay block における Assay の選出、Assay description の作成および評価は、以下の Step 1 および Step 2 により行った。Step 1 ではメンバーにより提案された Assay の中から定量的に評価可能な Assay を選出し、Assay ごとに詳細な情報をとりまとめた Assay description を作成した。続いて Step 2 では作成者以外のメンバーが Assay description の評価案を作成し、その評価案をもとに、Assay block のメンバー全体で協議し、合意したものを Assay block からの提案 Assay とその評価結果として Expert working group の全体会議に報告することになっている。

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。

(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

Bhas 42 CTA は、令和 4 年度に公表した CTA の Block 3 でランク A の評価を得た 3 種 CTA (SHE CTA, Bhas 42 CTA, Balb 3T3 CTA) のレビュー論文において、NGTxC のメカニズム解明および NGTxC・IATA 構築における CTA の貢献を担う Assay としても重要な位置づけであることが示されたことから、令和 5 年度は Bhas 42 CTA の OECD TG 申請の SPSF 原案を作成した。

Bhas 42 CTA の SPSF 原案では、Bhas 42

CTA のメカニズムとして、我々が令和 3 年度に論文公表した形質転換過程の経時的なトランスクリプトーム解析の論文およびその他エピジェネティクスなどの各種論文が公表されていることを提示し、各国においても Bhas 42 CTA のメカニズムが検討されていることを示した。また、形質転換過程の経時的な他点でのトランスクリプトーム解析の論文から、AOP の一例を導き出し SPSF 原案に示した。Bhas 42 CTA の発がん性予測率については、当初の原案では既報 (Sakai et al., *Mutat Res.*, 702, 100-122, 2010) をもとに、Concordance 78%, Sensitivity 73%, Specificity 84% と示したが、各国からのコメントを参考に評価対象の化合物の見直しを行った結果、Concordance 83% および Sensitivity 83% に向上した。さらに、厚生労働省の労働安全衛生法における「職場で使用される化学物質の発がん性評価の加速化」として用いられた系統樹により遺伝毒性試験である Ames 試験で陰性の場合に Bhas 42 CTA を実施するバッテリー系統樹で発がん性予測率を算出したところ、Concordance 88% および Sensitivity 91% と高値になった。また、遺伝毒性試験として、Ames 試験だけでなく、マウスリンフォーマ試験、染色体異常試験、小核試験を含めての Bhas 42 CTA とのバッテリーでの予測率を算出したところ、Concordance 89% および Sensitivity 93% とさらに高値となった。したがって、我が国の労働安全衛生法における発がん性のスクリーニングの仕組みとして実施された、遺伝毒性試験と Bhas 42 CTA のバッテリー系統樹は、発がん性予測の系統樹として優れていることを SPSF 原案において各国に示すことができた。一方で、Bhas 42 CTA の SPSF 原案の提出においては、同意国 (組織) は多数であったが、NGTxC・IATA における採用

アッセイの TG 推薦および NGTxC・IATA のガイドンスドキュメントとしての承認申請等, NGTxC・IATA における今後の計画との調整が Bhas 42 CTA の TG 化に向けて更なる検討事項であると考えられた。

D. 考察

Bhas 42 CTA のメカニズムに関する論文は年々増加しており, 今後も Bhas 42 CTA のメカニズムは, 多方面からの解析により, Bhas 42 CTA における細胞形質転換過程とヒトでの発がん過程との関連が示されることで, Bhas 42 CTA の有用性がより明確になるものと思われる。

また, 発がん性予測試験としての Bhas 42 CTA の役割は, Bhas 42 CTA の開発の目的でもある, 遺伝毒性試験だけでは検出できない発がん物質, すなわち非遺伝毒性発がん物質(NGTxC)の検出であり, 遺伝毒性試験と Bhas 42 CTA のバッテリー系統樹は, Bhas 42 CTA の開発の目的に沿ったものである。実際にその予測率は Concordance 89%および Sensitivity 93%の高値となったことから, 我が国の優れた発がん予測系統樹は, 今後も Bhas 42 CTA の有用な活用例として示すことが可能であると考えられた。

E. 健康危険情報

特になし

F. 結論

Bhas 42 CTA の OECD における TG 化作業開始の承認をうけるため, SPSF の原案を作成した。

G. 研究発表

G-1. 論文発表

なし

G-2 学会発表

山本修平, 大森清美, 内田和歌奈, 小沼泰子, 山岸夏望, 宮本健司, 内田絢斗, 白川真一, 福田淳二, Bhas42細胞形質転換試験法におけるフォーカス判定用CNNモデルの汎用性向上, 日本動物実験代替法学会第36回大会 2023年11月。

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

H-1. 特許取得

なし

H-2. 実用新案登録

なし

H-3. その他

なし