

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
AI 支援型 MPS を用いたヒト iPS 由来神経細胞による神経毒性試験法の開発

令和 6 年度 分担研究報告書

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 客員研究員

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、本研究班における情報発信を担当した。

今年度、新たな評価法の比較対照となる経済協力開発機構 (OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development) に提案された試験法ガイドライン (TG) 443 拡張一世代生殖毒性試験 (EOGRTS : Extended One- Generation Reproductive Toxicity Study) および GD151 (TG433 補助文書) の改定に関する情報を収集した。結果として、2025 年 4 月に TG433 改定案は採択されたが、*in vivo* DNT (Developmental Neurotoxicity) に関する改定はなされなかった。

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、本研究班における情報発信を担当した。

今年度、新たな評価法の比較対照となる経済協力開発機構 (OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development) に提案された試験法ガイドライン (TG) 443 拡張一世代生殖毒性試験 (EOGRTS : Extended One- Generation Reproductive Toxicity Study) の改定に関する情報を収集した。

B. 研究方法

OECD に提案された TG443 EOGRTS の改定案は、欧州化学品庁 (ECHA: European Chemicals Agency) により提示され、OECD の TG プログラム各国調整官作業班 (WNT) にて議論されてきた。2025 年 4 月に改定案が WNT にて合意されるまでの過程をまとめた。

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. TG の改定案

ECHA により設立された EOGRTS 評価プロジェクトは 2021 年 3 月から 2 年間実施され、2023 年 3 月に総説が発表されている。本プロジェクトの目的は、REACH (Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals) で施行されている TG433 の性能を評価し、有害性評価に関連する情報が適切に提供されているか、REACH 登録ドシエにおける EOGRTS の性能の特異的な側面を評価しているかであった。

総説の中には、7 つの主要な問題点が示され、その一つとして、DNT 調査の特異的な問題点が挙げられている。具体的には、55 の研究報告書から、24 の DNT コホート研究が評価され、性能の改善が求められており、方法、解析、報告書に欠点を抱えているとされた。

ECHA は EOGRTS 総説をもとに、OECD に TG433 および GD151 (TG433 補助文書) を改定するプロジェクトの提案を行った。OECD に提案された目的は、EOGRTS の計画、施行、解析および報告書の改良である。

OECD WNT は、このプロジェクトを認める条件として、専門家グループで TG433 や GD151 の改定を議論するだけでなく、2024 年の後半に OECD WNT 主催のワークショップを開き、EOGRTS の予期せぬ／課題について議論することを推奨した。

TG433 改定案は 2024 年 11 月に ECHA より提示され、WNT で意見募集が開始された。主な改定点は、発達免疫毒性に関するコホート研究の記載変更に焦点が当てられ、DNT に関する変更はなかった。この理由として、DNT コホート研究の中で、多くの試験施設が報告書の中で EOGRTS の詳細を記載しておらず、解釈を妨げる欠陥がかなりの頻度で見つかった。プロジェクトの調査結果は、発達神

経毒性に関連する EU 規則に参照される最新の OECD TG および OECD/EU ガイダンス文書として報告されている方法と結果に関与しておらず、重要な改良が必要としているものの、結果がない以上、TG の改定には至らなかったことによる。

2025 年 4 月の WNT 会議では、動物実験における被験物質のコード化についての議論がなされた。コード化により、評価者によるバイアスを減らし、再現性が増すとされている。コード化については、記載されている TG は少ないが、TG426 および TG443 には以下の記載がある。

TG426 のパラ 23 :

The animals should be observed outside the home cage by trained technicians who are **unaware of the animals'** treatment, using standardized procedures to minimise animal stress and observer bias, and maximise inter-observer reliability.

TG426 のパラ 29 :

The offspring (at least one pup/sex/litter) should be observed by trained technicians who are **unaware of the animals'** treatment, using standardized procedures to minimise bias and maximise inter observer reliability.

TG433 のパラ 50 :

All animals should be observed carefully by trained observers who are **unaware of the animals'** treatment status, using standardized procedures to minimize observer variability.

これらの議論や日本からも本研究班の安彦代表研究者などからも意見などを取り込み、WNT は TG433 の改定を 2025 年 4 月に採択した。

C-2. GD151 の改定

2024 年 4 月に ECHA 主導で、EOGRTS に関する CRO との検討会議が開かれ、4 つの事例報告がなされた。

これを受け、OECD の WNT が 11 月に会議を開催し、4 事例について議論した。

2 事例は、被験物質の発生毒性を評価するために重要な、物質適用が適切な段階でなされたのかの議論であった。

次の事例は、一世代だけでなく、二世代まで拡張すべき事例であった。

最後に、DNT に形態観察を導入したという事例であった。MRI（磁気共鳴画像法）を用いることにより、工程による影響の削減、観察者のばらつきを減らせる利点が挙げられている。

これらの内容をもとに、GD151 は来年の改定に向け、WNT で議論が続くことになった。

D. 考察

今後の専門家間の議論や OECD ワークショップを経て、国際的な合意がなされた上で、GD151 の改定がなされることを期待している。DNT は EOGRTS コホート研究の重要な指標であると考えられ、今後の動向には注意が必要と考えている。この改定は対照となる *in vivo* データの信頼性に関わるものであるとともに、新たな *in vitro* DNT 法の開発にも関係してくると思われる。本改定に関する継続的な動向把握は必須であると考ええる。

E. 健康危険情報

特になし

F. 結論

ECHA による EOGRTS 総説をもとに、OECD に TG433 が 2025 年 4 月に改定された。ただし、*in vivo* DNT に関する改定はなかった。

DNT に関する新規評価法を開発する上でも、この TG の改定動向には今後も注目していくべきと考える。

G. 参考文献

1. OECD (2018) No. 443, Guideline for the testing of Chemicals, Extended One Generation Reproductive Toxicity Study, OECD, Paris
2. OECD (2011), Guidance Document supporting TG 443: Extended One Generation Reproductive Toxicity Study, Series on Testing and Assessment, No. 151, OECD, Paris
3. ECHA, Final report of the EOGRTS review project, Evaluating results from 55 extended one-generation reproductive toxicity studies under REACH, 2023

H. 研究発表

H-1. 論文発表

1. 小島肇夫: 動物実験代替法の歴史、Cosmetic Science、2024、10、56-63.
2. Mathisen GH, Bearth A, Jones LB, Hoffmann S, Vist GE, Ames HM, Husøy T, Svendsen C, Tsaion K, Ashikaga T, Bloch D, Cavoski A, Chiu WA, Davies HG, Giusti A, Hartung T, Hirabayashi Y, Hogberg HT, Joglekar R, Kojima H, Krishnan K, Kwon S, Osborne OJ, Roggen E, Rooney AA, Rousselle C, Sass JB, Sepai O, Simanainen U, Thayer KA, Tong W, Wikoff D, Wright F, Whaley P: Time for CHANGE: system-level interventions for bringing forward the date of effective use of NAMs in regulatory toxicology, Arch Toxicol, 2024 Jun 14. doi: 10.1007/s00204-024-03802-6.
3. Kojima H., History of the Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) test guidelines for non-animal test

methods in Japan. Genes Environ. 2025;47(1):3. doi: 10.1186/s41021-024-00323-7.

H-2. 学会発表

1. 三ヶ島史人、真木一茂、小島肇、栞形麻樹子、大久保佑亮、星野裕紀子、片桐龍一、石黒司、渡部一人、角崎英志、下村和裕：医薬品の生殖発生毒性試験及び生殖発生毒性評価代替法に係る状況調査、第 51 回日本毒性学会学術年会 (2024.7.5)
2. 小島肇：動物実験代替法から New Approach Methodologies (NAM) への変遷、第 14 回レギュラトリーサイエンス学会 (2024.9.13)
3. Hajime Kojima, International progress on the development and regulatory application of NAMs/Alternatives Symposium on Innovative Collaboration in Toxicology Alternative Methods in Shanghai (2024.11.2)
4. 小島肇：JaCVAM の成果と今後の課題、日本動物実験代替法学会 第 37 回大会 (2024.11.30)

I. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

I-1. 特許取得

該当なし

I-2. 実用新案登録

該当なし

I-3. その他

該当なし