

3次元培養系と次世代シーケンサーによる
変異解析手法（ec-NGS）を組み合わせた化学物質の遺伝毒性評価法の開発
分担研究項目：ヒト肝キメラマウスを用いた *in vivo* 毒性評価、HepaSH 細胞の提供

研究分担者 樋口 裕一郎 ……公益社団法人実中研・室長

研究要旨

ヒト肝キメラマウスへのモノクロタリン投与試験を遂行し、遺伝毒性試験における同モデルの有効性について検証を行った。また *in vitro* 共培養系の構築に使用するヒト肝キメラマウス由来ヒト肝細胞、HepaSH 細胞の生産-提供を実施した。

A. 研究目的

化学物質の開発には安全性評価が不可欠であり、そのために実験動物を用いた反復投与試験等の実施が必要とされ、その結果が重視されることが多い。ヒトへの外挿性が高い試験として、トランスジェニック (TG) 動物を用いた変異原性評価が注目されているものの、現状ではヒト代謝を十分に加味した試験系とはなっていない。また、化審法などの対象となるすべての化学物質に対して、ヒトの発がん性リスクを動物実験で評価することは、昨今の動物愛護3Rs (Replacement・Reduction・Refinement) の観点からも現実的でなく、新規の動物実験代替法の開発・導入が求められている。一方、汎用されている *in vitro* 遺伝毒性試験はいずれも均質な細胞を用いた評価系であり、生体への外挿の点で限界がある。これに加え、従来の *in vitro* 遺伝毒性試験はいずれも化学物質の代謝活性化に齧歯類の代謝系 (S9) を用いており、これを単純にヒト由来のS9に変更するという手法だけでは十分にヒトの代謝を反映した結果を得ることが出来ないことに加え、ヒト由来の代謝系材料の調達にも課題がある。

このような背景から、本研究では化学物質の発がん性予測のための新規遺伝毒性評価手法として、3D培養により作成したオルガノイドを用い、ヒトへの外挿性が高くかつ迅速で簡便な *in vitro* 遺伝毒性試験の開発を試みる。多くの化学物質が肝臓に対して毒性を示すことから、本研究では肝臓を対象とした評価系の構築を検討する。

B. 研究方法

オルガノイドで評価した化学物質をヒト肝キメラマウスに曝露し、得られた結果について比較することで、開発したオルガノイドを用いた遺伝毒性試験法の動物実験代替法としての妥当性・有用性について検証する。またヒトへの外挿性を高めるため、ヒト肝キメラマウス肝臓から単離したヒト肝細胞、HepaSH細胞とオルガノイドとの共培養系の開発についても併せて検討する。

（倫理面への配慮）

本研究は動物実験等の実施に関する基本指針に従い、公益財団法人実中研・動物実験委員会により審査・承認されている。（許可番号：AIA230058, AIA240058）

C. 研究結果

ヒト肝キメラマウスへのモノクロタリン投与試験を遂行し、遺伝毒性試験における同モデルの有効性について検証を行った。このうち腹腔内投与群では時間経過とともに血中肝傷害指標の上昇と、体重の

減少を観察することが出来た。また星薬科大学へ HepaSH 細胞を計 4 回-25 単位 (55 million cells 相当) 頒布し、*in vitro* 共培養系の構築に貢献した。

D. 考察

モノクロタリンを投与したヒト肝キメラマウスにおいて、肝傷害の誘導を期待できる兆候が得られている。今後は投与個体より採取したキメラ肝臓の病理解析、並びに ec-NGS 解析を進め、評価系としての同モデルの妥当性を検証する必要がある。

E. 結論

ヒト肝キメラマウスを用いた遺伝毒性試験について解析を進め、次年度以降の試験について候補薬物の選定、並びに評価方法の見直しを進めていく。また HepaSH 細胞の提供についても必要に応じて柔軟に対応できるよう、準備を進める。

F. 研究発表

1. 論文発表

該当なし

2. 学会発表

- 小畑悠樹、上原正太郎、樋口裕一郎、戸塚ゆ加里、末水洋志、*in vitro* 薬剤誘発性リン脂質症評価における HepaSH 細胞の有用性、第52回日本毒性学会（2025年7月、那覇、沖縄）
- 小畑 悠樹、上原 正太郎、樋口 裕一郎、戸塚 ゆ加里、末水 洋志、ヒト肝キメラマウスにおけるメトトレキサートの代謝および腎毒性、日本薬学会第146年会（2026年3月、大阪）
- 宮崎 飛翔、石ヶ守 里加子、長谷川 晋也、藤岡 正喜、吉田 健一、大野 麻理奈、小川 誠司、垣内 伸之、川口 駿、渡部 光一、中馬 新一郎、加藤 孝一、美谷島 克宏、樋口 裕一郎、上原 正太郎、戸塚 ゆ加里、マウス肝臓由来オルガノイドを用いた新規 *in vitro* 遺伝毒性試験法の開発、日本薬学会第146年会（2026年3月、大阪）

G. 知的所有権の取得状況

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

