

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）

国内外で開発されOECDで公定化されるNAMを活用した試験法の行政的な  
受け入れに対応するための研究

令和7年度分担研究報告書

Bhas42細胞形質転換試験法のTG化、及び、  
NGTxC・IATAガイダンス文書作成支援

研究分担者 小川久美子

星薬科大学 毒性学研究室 教授

研究分担者 豊田武士

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

OECD では、2016 年より NGTxC の検出を目的とした IATA 開発が実施されている。ワーキンググループでは、NGTxC の作用機構（mode of action: MoA）が議論され、それに基づく IATA 構築の方針が国際合意され、2020 年に専門委員会として総説論文を公表した。本年度の活動においては、本ワーキンググループの web 会議に参加し、非遺伝毒性発がん機序、特にキーイベントの 1 つとされる、免疫修飾、細胞増殖の変動に基づく評価法開発及び reference chemical の選定について検討した。現在のところ、NGTxC の IATA は、Modular Strategy of Testing and Assessment の方法でとりまとめる方向性にある。すなわち、利用可能な既存データ、初期の主要イベントと代謝情報、機序に基づく評価、（持続的）細胞増殖と細胞形質転換、後期有害事象、WoE 総合評価を行う段階的な評価方法である。スクリーニングを目的としている場合は、初期のアッセイのみで判断することも想定されている。また、reference chemical についても議論が進められており、機序との組合せなど選定方法について整理が必要と考えられている。NGTxC については標的臓器と共に、閾値の設定の可能性についての情報も必要と考えられる。in vitro 試験のみで十分な評価が可能なのか、丁寧な議論が必要と考える。

A. 研究目的

昨今、動物実験を用いないで全身毒性を評価するため、動物実験代替法の枠に捉われない概念として、New Approach Methodology (NAM) の開発が盛んである。NAM とは「動物実験の利用を避け

た化学物質の有害性及びリスク評価における情報を用いるための技術、方法、アプローチ、またはその組み合わせ」と米国環境保護局（EPA）により定義されている。経済協力開発機構（OECD）の試験法ガイドライン（TG）プログラム各国

調整官作業班（WNT）や2023年に新設されたAdvisory Group on Emerging Science in Chemicals Assessment（ESCA）では、NAMに用いる新興技術の公定化のためのバリデーションを加速するための基準や仕組みの改定を促している。

本研究では、2016年よりOECDにおいて開発中である非遺伝毒性発がん性物質（Non-genotoxic carcinogen: NGTxC）の検出に関する試験及び評価への統合的アプローチ（Integrated Approaches to Testing and Assessment: IATA）に関する議論に参画し、そのガイダンス文書作成を支援するとともに、化学物質のヒト発がん性に関する適切な評価法に関する情報収集を実施することを目的としている。

## B. 研究方法

OECDでは、2016年よりNGTxCの検出を目的としたIATA開発が実施されている。ワーキンググループでは、NGTxCの作用機構（mode of action: MoA）が議論され、それに基づくIATA構築の方針が国際合意され、2020年に専門委員会として総説論文を公表した。本年度の活動において、研究分担者等は、本ワーキンググループのweb会議に参加し、非遺伝毒性発がん機序、特に免疫修飾、細胞増殖の変動に基づく評価法開発及びreference chemicalの選定について、各団体からの検討状況報告に基づく議論に参画した。

（倫理面への配慮）  
該当なし。

## C. 研究結果

10月13、15、17日のweb会議においては、1) 免疫機能障害はNGTxCのキーイベントの1つであり、免疫毒性、免疫回避、免疫抑制、炎症性免疫応答等が関与してい

る。サイトカイン及びアリル炭化水素受容体を介した経路の分子的阻害は主要な役割をはたしており、NGTxCのバイオマーカーになりうるとしたサブグループの論文内容が紹介された。（Colacci A., et al, Int. J. Mol. Sci., 26; 6310, 2025）2) 細胞増殖もNGTxCのキーイベントの1つと認識されており、ヒトの肝細胞をはじめとする様々な*in vitro* アッセイ系も入手可能である。BrdUやKi-67等がキーマーカーと考えられるが、臓器によっては評価の限界もあり、規制への応用においては、現時点では方法論としてもバリデーションされていないことやヒトからのサンプルを用いる場合の倫理的問題点についても意見があった。3) これらのアッセイ系の妥当性を検証するためには、参照化学物質（reference chemical）の選定が必要であるとされることから、適切な陽性対照及び陰性対照の選定と選定基準について議論された。

12月17日、1月9日、3月18日にもweb会議が開催され、それぞれ免疫毒性、参照化学物質についての議論があり、現在参照物質の選定に関する評価文書の草稿を策定している。

## D. 考察

これまでにあげられてきたキーイベントに基づくアッセイ系の妥当性を評価するためには、一定の陽性及び陰性の参照化合物が必要であり、国際がん研究機関（International Agency for Research on Cancer: IARC）のGroup 1物質のうち遺伝毒性を認めない化合物などを選定している。一方で、機序によっては陽性物質であっても陽性を示さない場合も想定されるため、アッセイ系の妥当性評価の判断には更なる検討が必要と考えられた。さらに、Gap junction, apoptosisの抑制など、十分な

検討が終了していないアッセイブロックも残されており、引き続きの議論が求められている。

## E. 結論

現在のところ、NGTxC の IATA は、Modular Strategy of Testing and Assessment の方法でとりまとめる方向性にある。すなわち、利用可能な既存データ、初期の主要イベントと代謝情報、機序に基づく評価、(持続的)細胞増殖と細胞形質転換、後期有害事象、WoE 総合評価を行う段階的な評価方法である。スクリーニングを目的としている場合は、初期のアッセイのみで判断することも想定されている。また、reference chemical についても議論が進められており、機序との組合せなど選定方法について整理が必要と考えられている。NGTxC については標的臓器と共に、閾値の設定の可能性についての情報も必要と考えられる。*in vitro* 試験のみで十分な評価が可能なのか、丁寧な議論が必要と考える。

## F. 研究発表

### F.1. 論文発表

1. Vachiraarunwong A, Fujioka M, Alexander DB, Suzuki S, Guo R, Qiu G, Kawamura Y, Shibano K, Noura I, Praseatsook K, Akane H, Takasu S, Tsuda H, Ogawa K, Wanibuchi H, Gi M. Developing a novel *in vitro* toxicity assay for predicting inhalation toxicity in rats. *Toxicol Lett.* 2025;111803. doi: 10.1016/j.toxlet.2025.111803.

### F.2 学会発表

1. 小川久美子, 松下幸平, 豊田武士. 非ヒト霊長類の代替法に関する研究 -免疫

毒性の視点から-. 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025.7.3)

2. 酒井 寛泰, 木山 美穂, 染谷 柚杏, 北村 陽佳, 与那嶺 栞, 里 史明, 今 理紗子, 五十嵐 信智, 千葉 義彦, 細江 智夫, 小川 久美子. シスプラチンおよびビンクリスチン投与によるマウス皮膚におけるコラーゲンおよびエラスチンの発現抑制. 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025.7.2)
3. 小川久美子, 赤根弘敏, 豊田武士. 機序に基づく抗甲状腺物質の *in vivo* 評価法開発と国際動向. 日本動物実験代替法学会 第 28 回大会 (2025.11.1)

## G. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他