

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

バリデーション基準の改定対応および皮膚感作性試験のTG開発

研究分担者 足利太可雄

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・ゲノム安全科学部・第四室長

研究要旨

バリデーション基準の改定対応については、OECD で進むバリデーション基準に関するガイダンス（GD34）の改定に関するプロジェクトグループ会議に出席し、提案された部分的なドラフト文章及び付属資料について意見交換を行った。皮膚感作性試験のテストガイドライン(TG)開発については、2026年度の承認を目指して α -Sens のドラフト TG を提出し、専門家会議での議論を開始した。またこれまで日本で開発された皮膚感作性試験代替法 EpiSensA, ADRA および IL-8 Luc assay が TG497 (Defined Approach Skin Sensitization) に追加収載されるように必要な情報を提出した結果、これらの代替法が 2025 年 6 月に GL497 に追加収載された。また EpiSensA と *in silico* の組み合わせを TG497 に追記するため、OECD 専門家会議において議論した。さらに新規表皮モデルを用いた Epi2SensA を TG442D に追加することを目指し、バリデーション報告書、peer review 報告書及び TG 案を作成した。

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、OECD のバリデーションのあり方に関する GD34 の改定に取り組むとともに、日本で開発された皮膚感作性試験代替法またはその me-too 試験法が OECD TG として採択させることを目的とした。

B. 研究方法

1) 平林、研究分担者足利及び小島は、これまで日本で開発された皮膚感作性試験代替法 EpiSensA, ADRA および IL-8 Luc assay が TG497 (Defined

Approach Skin Sensitization) に追加収載されるよう尽力した。また、TG497 に *in silico* モデルの追加収載に関する WNT の議論にも参加した。

- 2) 研究分担者の足利及び小島は、研究協力者の赤堀有実 (CERI) 及び小野敦 (岡山大学) らとともに、TG442D に追加することを目指し、皮膚感作性試験代替法 α -SENS のバリデーション報告書、peer review 報告書及び TG 案を作成した。
- 3) 研究分担者の足利及び小島は、研究協力者の立花滋博 (食品薬品安全センター) らとともに、新規表皮モデルを用いた Epi2SensA を TG442D に追加することを目指し、バリデーション報告書、peer review 報告書及び TG 案を作成した。
- 4) 研究分担者足利及び小島は、研究協力者の里田裕紀 (花王) らとともに、EpiSensA と *in silico* の組み合わせを TG497 に追記するため、OECD 専門家会議において議論した。
- 5) 研究分担者の足利は、OECD で進むバリデーション基準に関するガイダンス (GD34) の改定について OECD で開催されたプロジェクトグループ会議に出席し、提案された部分的なドラフト文章及び付属資料について意見交換を行った。

(倫理面への配慮)

本研究は文章案作成やデータ解析のみのため、倫理面の問題はない。

C. 研究結果

1. 皮膚感作性試験代替法の開発について

- 1) 2025 年の WNT 会議にて、EpiSensA, ADRA 及び IL-8 Luc assay が GL497

(DASS) に追加収載されることが決まり、6月にOECDにて公開された。なお、*in silico*モデルのTG497への収載は議論が継続中である。

- 2) 新規皮膚感作性試験代替法 α -SENS のバリデーション報告書、peer review 報告書及び TG 案を OECD に 2025 年 11 月に提出し、専門家会議での検討を行った。バリデーション結果は計画通りであり、TG に支障となる問題点は指摘されていない。
- 3) 新規表皮モデル EpiDerm を用いた Epi2SensA のバリデーション報告書、peer review 報告書及び TG 案を OECD に 2025 年 11 月に提出した。バリデーションの結果、EpiSensA の予測モデルでは再現性に欠けた。Epi2SensA の結果に合わせた細胞生存率 (60% : EpiSensA は 80%)、4 遺伝子の内、2 遺伝子が基準を超えた場合が陽性 (EpiSensA は 1 遺伝子) と緩やかな陽性範囲とした場合、バリデーションの受け入れ基準を満たした。
- 4) EpiSensA と *in silico* 予測モデルの組み合わせに関しては、従来のタンパク結合性と樹状細胞活性化という 2 つの *in vitro* 試験のエンドポイントに代わり、角化細胞活性化のみになったことから、専門家の間で懸念が生じおり、現在は追加検証を行っている。

2. GD34改定について

GD34の改定については、2025年12月4、5日にOECDで行われたプロジェクトグループ会議に出席し、特に全身毒性評価に関するNAMに対応するバリデーションのあり方について議論を行った。まず共通認識として、皮膚刺激性など従来の局所毒性の試験法のバリデーション研究よりも、柔軟で効率化されたプロセスが必要であるこ

とが再確認された。それを実現するために、従来のプレバリデーションから事前評価 (readiness criteria)へ移行することが必要とされた。事前評価のプロセスとは、あらかじめ確認事項が定められた定型フォーマットに、試験法開発者が生物学的妥当性、プロトコルの有無、再現性、予測性などに関する情報を記載し、専門家による事前評価の成績によってバリデーションを簡素化または省略可能とするものである。柔軟で効率的なバリデーションのあり方については、参加施設数や被験物質の削減が検討されたが、効率性と厳密性を両立させることはやはり難しく、バリデーションプロセス自体に大きな変化はない見通しである。事前評価を厳格化することで、バリデーションに入る前に技術移転性確認、プロトコル改定、及び適用限界の明確化が達成されていることが確認できれば、バリデーションの大幅な効率化が実現できると考えられる一方、試験法開発者の負担が増えることも懸念された。またpeer reviewのあり方についても、開発者から報酬を受け取る独立コンサルタントによって行われる場合を想定し、開発者とpeer reviewerの独立性をどのように担保するのかが議論された。またOECD自身がpeer reviewを運営し、各国のコーディネーターに専門家の指名を求める場合、専門家グループは当該バリデーション研究に関与するべきではないことが明記される見通しとなった。さらに、従来のように個別の試験法をバリデーションした後にDefined approach (DA)により統合するのではなく、まずDAを開発・バリデーションした後に個別の試験法バリデーションを経ずに当てはめる方式や、*in silico*モデルの事前評価のテンプレートも今後作成することとなった。

D. 考察

1. 皮膚感作性試験代替法の開発について
ADRA, EpiSensA, IL-8 Luc assay についてはGL497に収載され、日本で開発されたこれらのガイドラインの活用の加速が期待される。一方 *in silico* の行政活用については十分な議論が行われたとは言い難く、今後の課題と考えられる。

2. GD34改定について

やはり効率性と厳密性を両立させることは難しく、バリデーション研究自体に大きな変化はない。バリデーションに入る前にしっかり準備・評価することが結局は最大の効率化

今後 *me-too* のバリデーション研究や *peer review* は独立のコンサルタントが主流になると予想

一方、複雑な毒性評価に必要な DA や *in silico* のバリデーションの進め方については不透明の状況で、議論は長引くと予想された。

E. 結論

2025 年の WNT 会議にて、皮膚感作性試験代替法 EpiSensA, ADRA 及び IL-8 Luc assay が TG497 に追加収載された。

F. 研究発表

F.1. 論文発表

1. Ambe K, Kinoshita K, Tokunaga J, Satake R, Murasaki W, Tohkin M, Yamada T, Ashikaga T. ExSERA: The Explainable Machine Learning Model for Skin Sensitization Risk Assessment. Regulatory Toxicology and Pharmacology. 2026;169:106100.

F.2. 学会発表

1. Ashikaga T. NAMs development in Japan: Past, Present and Future, International Workshop on the Standardization and Validation of Advanced Alternative Testing Methods (2025.4.29, Juju, Korea)
2. 佐竹里野, 徳永朱莉, 木下啓, 岩佐帆乃夏, 波多野浩太, 中村伸昭, 足利太可雄, 安部賀央里. Development of machine learning models for predicting skin sensitization intensity - Use of the amino acid derivative binding test ADRA-. 第 53 回日本毒性学会学術年会 (2025.7.2, 沖縄)
3. 森華奈子, 足利太可雄, 小野美都穂, 江畑知憲, 杉本航, 田中利男, 平田普三, 小島肇. ゼブラフィッシュを用いた発生毒性試験代替法の現状及び動向, 第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025.7.3, 沖縄)
4. Ashikaga T. Development of IATA for respiratory sensitization based on the AOP and the status of DRP development in OECD, RIFM Respiratory Research Workshop (2025.7.15, Mahwah, NJ, USA)
5. Ashikaga T. Development and regulatory acceptance of NAMs in Japan: Current status and future, 13th World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences (WC13) (2025.9.3, Rio De Janeiro, Brazil)
6. 小池英子, 足利太可雄. *In vitro* 呼吸器感作性試験の行政活用における国際動向と JaCVAM の取り組み, 第 32 回日本免疫毒性学会学術年会 (2025.9.5, 岐阜)
7. 青島萌乃歌, 松村一史, 田邊郁也, 石川晋吉, 溝口出, 善本隆之, 足利太可雄. 化学物質の *in vitro* 呼吸器感作性評価における再構成ヒト気管支上皮の活用, 第 32 回日本免疫毒性学会学術年会 (2025.9.5, 岐阜)
8. 山崎大樹, 木村啓志, 足利太可雄, 堀武志, 佐藤薫, 最上由香里, 石田誠一. 生体模倣システム (MPS) の行政的利用の推進戦略と評価法構築での考慮事項, 第 15 回 レギュラトリーサイエンス学会学術大会 (2025.9.6, 東京)
9. 足利太可雄. 化粧品・医薬部外品の安全性評価における代替法の開発動向—局所毒性を中心に—, 日本動物実験代替法学会 第 38 回大会 (2025.11.3, 横浜)
10. 足利太可雄. 化粧品における NAMs 技術の受け入れ状況とこれから —全身毒性を中心に—, 日本動物実験代替法学会 第 38 回大会 (2025.11.3, 横浜)
11. 佐竹里野, 徳永朱莉, 木下啓, 岩佐帆乃夏, 波多野浩太, 中村伸昭, 足利太可雄, 安部賀央里. Next Generation Risk Assessment 事例研究: 酸化染料を用いた定量的皮膚感作性リスク評価. 日本動物実験代替法学会 第 38 回大会 (2025.11.3, 横浜)
12. Ashikaga T., Mizoguchi I, Yoshimoto T. Development of Integrated Approaches to Testing and Assessment for respiratory sensitization based on the AOP, International Conference on Stem Cell and Organoid Biology (ICSCOB-25) (2025.11.25-26, Oslo, Norway)
13. Satake R, Tokunaga J, Kinoshita K, Iwasa H, Hatano K, Nakamura N, Arakawa H, Yamada T, Ashikaga T., Ambe K. Next Generation Risk Assessment Case Study: A Quantitative Machine Learning Approach for Skin Sensitization in Oxidative Hair Dyes. 65th Annual Meeting of the Society

of Toxicology (2026.3.22, USA)

14. Pellevoisin C, Kojima H, Hoffmann S, Ashikaga T, Landry T, Romero C, Guntur K, Klausner M, Stadnicki J, Gehrke H, Mills-Goodlet R, Panousi N, Johnson V. J, Narita K, Tachibana S, Kojima K, Armento A. Me-Too Validation of the Epi2SensA Method Using EpiDerm Model for Skin Sensitization Testing Under OECD TG442D, 65th SOT (2026.3.25, Sandiego, USA)

G. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)

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