

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

In vitro toxicokineticsのDRP開発

研究分担者 山崎 大樹

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薬理部・第二室長

研究協力者 石田誠一 崇城大学・教授

研究要旨

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およ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部会 (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。

本研究班は、このような世界的な動向に呼応して NAM の開発を加速し、新興技術に基づく評価法を公定化させるとともに、他国が提案する OECD 大型プロジェクトに関与し、得られた成果を化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律 (化審法) や毒物及び劇物取締法 (毒劇法) などの我が国の厚生労働行政に反映させることを目的とする。

分担研究者の山崎は、近年、ヒト外挿性の向上や動物実験代替促進の観点から製薬業界を含む多くの業界で注目を集めている生体模倣システム (MPS: microphysiological systems) について、腸-肝連結初回通過効果モデルの開発を OECD TG417 Toxicokinetics の一部を代替する試験法として AMED (国立研究開発法人日本医療研究開発機構) の課題で実施している。将来的に、腸-肝連結初回通過効果モデル試験法により TG417 の改訂あるいは新規 TG 作成を目指すべく、第一段階として「Detailed Review Paper for Gut-Liver MPS Toxicokinetics」を作成することを本研究班での最終目標としている。DRP 作成を行うにあたり、2024年度には SPSF (Standard Proposal Submission Form) を OECD へ提出し、各国専門官のレビューを経て、2025年4月の OECD WNT 会議にて DRP 作成が承認された。2025年度は、DRP 作成の基となる総説を国内および海外メンバーとともに作成し、英文誌への投稿を目指した。また、DRP には試験法に用いる化合物リストも必要であるため、医薬品および化学物質に関して様々な観点から選定を進めた。

A. 研究目的

昨今、動物実験を用いずに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およ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部会 (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。

本研究班は、このような世界的な動向に呼応して NAM の開発を加速し、新興技術に基づく評価法を公定化させるとともに、他国が提案する OECD 大型プロジェクトに関与し、得られた成果を化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律 (化審法) や毒物及び劇物取締法 (毒劇法) などの我が国の厚生労働行政に反映させることを目的とする。

分担研究者の山崎は、近年、ヒト外挿性の向上や動物実験代替促進の観点から製薬業界を含む多くの業界で注目を集めている生体模倣システム (MPS: microphysiological systems) について、腸-肝連結初回通過効果モデルの開発を OECD TG417 Toxicokinetics の一部を代替する試験法として AMED (国立研究開発法人日本医療研究開発機構) の課題で実施している。将来的に、腸-肝連結初回通過効果モデル試験法により TG417 の改訂あるいは新規 TG 作成を目指すべく、第一段階として「Detailed Review Paper for Gut-Liver MPS Toxicokinetics」を作成することを、本研究

班での最終目標としている。

B. 研究方法

B-1. DRP の作成

1. DRP 作成の前に、DRP の基となる総説を国内および海外メンバーとともに作成し、英文誌 ALTEX への投稿を目指した。
2. 2025 年 10 月に OECD より進捗状況の確認があったため、回答した。
3. 総説作成メンバーに平林センター長、小島先生、堀先生を加えて DRP 作成メンバーとした。

B-2. 化合物選定

1. DRP には試験法に用いる化合物リストが必要であるため、医薬品に関して以下の観点から選定を進めた。
 - Biopharmaceutics Classification System (BCS) クラス分類 (図 1) による膜透過性と溶解性 (小腸での透過性評価および *in vitro* 試験として溶解させる必要があるため)
 - Biopharmaceutical Drug Disposition and Classification System (BDDCS) クラス分類 (図 2) による溶解性と肝代謝 (肝代謝評価および *in vitro* 試験として溶解させる必要があるため)
 - 購入価格 (価格の上限として ¥30,000/g を選定の基準とした)
 - 安定性 (溶解した際に加水分解等により消失することを排除するため)
 - 毒物・向精神薬・麻薬 (輸送が困難なため)
2. 化学物質の選定では、CERI (一般社団法人化学物質評価研究機構) に依頼して、ヒトでの膜透過性、肝代謝の情報がなるべく評価書に掲載されているという

観点で一般化学物質 15 種類、農薬 15 種類を選定してもらった。その後、価格および安定性、輸送の観点から絞った。

using a gut-liver microphysiological system and its application to human health risk assessment」とした。

	High Solubility	Low Solubility
High Permeability	Class 1 High Solubility High Permeability Rapid Dissolution	Class 2 Low Solubility High Permeability
Low Permeability	Class 3 High Solubility Low Permeability	Class 4 Low Solubility Low Permeability

図 1 BCS クラス分類

	High Solubility	Low Solubility
Extensive Metabolism	Class 1 Transporter Effects minimal	Class 2 Efflux transporter effects predominate in the gut, while absorptive and efflux transporter effects occur in the liver
Poor Metabolism	Class 3 Absorptive transporters effects predominate (but may be modulated by efflux transporters)	Class 4 Absorptive and efflux transporters effects could be important

図 2 BDDCS クラス分類

(倫理面への配慮)
該当なし

C. 研究結果

C-1. DRP の作成

1. タイトルを「Quantitative evaluation of first-pass effects for orally ingested chemicals

章立ては下記の通り。

1. Introduction

1-1. Importance of First-Pass Effect in the Evaluation of Orally Ingested Chemicals

1-2. Challenges and Paradigm Shifts in the Safety Evaluation of Chemical Substances

2. Biological Basis of the First-Pass Effect in Humans

2-1. Definition of First-Pass Effect and Its Significance in Pharmacokinetics

2-2. Absorption and Metabolism in the Small Intestine

2-3. Uptake and Metabolism in the Liver

3. Conventional Evaluation Methods for the First-Pass Effect and Their Limitations

3-1. In vivo Tests (Animal Experiments)

3-2. In vitro Single Tissue Culture Models

3-3. In silico Models (PBPK Models, etc.)

4. Development and Evaluation of Linked Gut-Liver MPS

4-1. Basic Principles and Design of MPS

4-2. Construction Examples of Gut-Liver Two-Organ Linked MPS

4-3. Evaluation Indicators of the First-Pass Effect Using MPS

4-4. Advantages and Challenges of MPS Compared to Conventional Methods

4-5. Regulatory Applications of MPS

5. Establishment of IVIVE Methodology Targeted at Pharmaceuticals

5-1. Significance of Selecting Pharmaceuticals as Test Substances in IVIVE

5-2. Selection Strategy for Test Substances

- 5-3. Practice of Quantitative Extrapolation (IVIVE) Using MPS Data
- 6. Expansion to Safety Evaluation of General Chemical Substances
 - 6-1. Differences and Challenges in Evaluation of Pharmaceuticals and General Chemical Substances
 - 6-2. Role as an "Entrance" to Systemic Kinetic Prediction
 - 6-3. Advancement of Risk Assessment Brought by MPS-IVIVE
 - 6-4. Challenge for Evaluation of New Substances of Concern: Nano- and Microplastics
- 7. Challenges and Future Prospects
 - 7-1. Technical Challenges and Efforts toward Overcoming Them
 - 7-2. Acceptability in Regulatory Science
 - 7-3. Future Prospects
- 8. Conclusion

投稿までの手順は下記の通り。

1. 日本人メンバーにて Version 1 ドラフト作成
 2. 海外メンバーに展開
 3. 微修正
 4. 全員に Version 2 ドラフトを回覧
 5. 著者の決定と投稿用原稿作成
 6. ALTEX 投稿
-
2. 2025 年 10 月の OECD からの進捗報告には下記のように回答した(太字部分)。
 - (1) Submission of an SPSF for OECD DRP development ('24.10)
 - (2) Commencement of a draft for DRP development ('24.10~)
 - (3) Revision and enhancement of the SPSF

incorporating feedback ('25.1-2)
 (4) OECD WNT approval of the SPSF for inclusion in the OECD TGP Workplan ('25.4)

(5) Expert meeting for the drafting of the DRP ('25.6 at MPS World Summit)

→**Recruitment for the Expert Group at the MPS World Summit in Brussels resulted in the following members:**

Nicole C. Kleinstreuer (NIH), Mandy B. Esch (NIST), Bhagwat Prasad (Cincinnati Children's Hospital Medical Center), Brigit Mertens (Sciensano), Warren Casey (NIH/NIEHS/DTT/OSD), Sofia Batista (EFSA), Denise Bloch (BfR), Yusuke Masuo (Kanazawa Univ), Kazuya Maeda (Kitasato Univ), Yoshiyuki Shirasaka (Showa Pharmaceutical Univ), Hiroyuki Kusuhaara (Univ. of Tokyo), Katsuhiko Miyajima (Tokyo Univ. of Agriculture), Seiichi Ishida (Sojo Univ.), Daiju Yamazaki (NIHS) Sonja Beken (EMA) and Philip Marx-Stoelting (BfR) are the recommenders.

(6) Submission of the draft DRP by the ad hoc drafting team ('26.5)

→**We are currently preparing the review paper (ALTEX) that will form the basis of the DRP, with plans to submit it at the end of this year.**

→**We are also preparing the DRP in parallel and plan to submit the draft around May next year.**

(7) Review by the OECD metabolism and toxicokinetics expert group ('26.9)

(8) Periodic teleconferences between expert groups ('26.9-27.1) Teleconference: every 1 month, in person meeting: kick-off & progress

(9) Approval of the draft DRP at OECD WNT meeting ('27.4)

Therefore, we are proceeding according to the schedule outlined in the SPSF.

3. 2025 年度終了時点での DRP 作成メンバー候補は以下の通り。

- Nicole C. Kleinstreuer (NIH)
- Mandy B. Esch (NIST)
- Bhagwat Prasad (Cincinnati Children's Hospital Medical Center)
- Brigit Mertens (Sciensano)
- Seiichi Ishida (Sojo Univ.)
- Hiroyuki Kusuha (Univ. of Tokyo)
- Kazuya Maeda (Kitasato Univ.)
- Yusuke Masuo (Kanazawa Univ.)
- Yoshiyuki Shirasaka (Showa Pharmaceutical Univ.)
- Daiju Yamazaki (NIHS)
- Yoko Hirabayashi (NIHS)
- Hajime Kojima (Sanyo-Onoda City Univ.)
- Takeshi Hori (NIHS)

C-2. 化合物選定

DRP に掲載する化合物リストの作成に向けて、*in vitro* 試験として物質の溶解性、小腸膜透過性、肝代謝の観点から選定が必要と考え、Custodio JM らの論文を参考にした (Custodio JM et al., *Advanced Drug Delivery Reviews*, 60, 717-733, 2008)。ここには 283 種類の医薬品が BCS クラス分類および BDDCS クラス分類とともに掲載されている。283 種類の医薬品リストに対して、補足情報としてインタビューフォームや添付文書を参考に推定のバイオアベイラビリティ、クリアランス (半減期等)、トランスポーター基質、肝代謝経路、代謝産物につ

いても加えた。その後、30,000 円/g を上限として価格および安定性による選定を行い、毒物・向精神薬・麻薬 (輸送が困難な物質) を排除した。その結果、医薬品としては 148 物質が残った (図 3)。

【医薬品】

282物質 [276物質の価格情報入手]

(国内メーカー205物質。国外メーカー71物質)
↓ -102物質 (3万円/g以上の物を除く)

180物質 (3万円/g以下の物質)

↓ -7物質 (価格不明)

173物質

↓ -7物質 (毒薬、向精神薬、麻薬)

166物質

↓ -18物質 (分解性red区分)

148物質

図 3 医薬品の選定過程

上記 148 物質のうち、溶解性が低いもの (BCS クラス II および IV) およびクリアランスが低い (半減期 10 時間以上あるいは 20 時間以上) については、そもそも実験が成立しない可能性が考えられたため事前に除く必要があると考えた。また、培地等の溶液に溶かした際に自然分解する物質や試験実施の際にプラスチックに吸着する物質についても事前に除く必要があると考え、以下のステップで選定を進めた。

Step 1: バリデーションの際、実施機関へ輸送する際に分解する物質を排除

Step 2: 培地等の溶媒に溶かした際に自然分解する物質を排除

Step 3: 試験を実施した際に、プラスチックに吸着する物質を排除

Step 4: *In vitro* 試験のため溶解性が極端に低い物質 (BCS クラス II and IV) は排除

Step 5: 試験の実施が最大でも 72 時間となることからクリアランスが極端に低い物質 (半減期 10 h 以上) は排除

Step 6: 残った物質について小腸透過性、肝代謝等の情報から 3×3 の表に分類

BCS クラス II および IV の物質を除き、半

減期 10 時間以上の物質を除いた場合、40 物質を図 4 のように分類することができた。条件を段階的に緩和することで、54 物質(半減期 10 時間以上のみを排除、図 5)、58 物質(半減期 20 時間以上のみを排除、図 6)を分類した。

化学物質については、CERI に一般化学物質 15 種類、農薬 15 種類をヒトでの膜透過性、肝代謝の情報になるべく評価書に掲載されているという観点で選定してもらった。その結果、以下の物質が選定された。

【一般化学物質】

ID	CAS RN	名称
1	79-06-1	アクリルアミド
2	108-95-2	フェノール
3	62-53-3	アニリン
4	92-87-5	ベンジジン
5	50-32-8	ベンゾ[a]ピレン
6	118-74-1	ヘキサクロロベンゼン
7	87-86-5	ペンタクロロフェノール
8	107-21-1	エチレングリコール
9	67-68-5	ジメチルスルホキシド (DMSO)
10	872-50-4	1-メチル-2-ピロリドンNMP
11	13674-84-5	トリス(1-クロロ-2-プロピル)ホファート
12	134-62-3	N,N-ジエチル-m-トルアミド (DEET)
13	76-03-9	トリクロロ酢酸
14	100-02-7	4-ニトロフェノール
15	7758-01-2	臭素酸カリウム

【農薬】

ID	CAS RN	名称
1	138261-41-3	イミダクロプリド
2	120068-37-3	フィプロニル
3	1229023-00-0	スピロビジオン
4	1616678-32-0	オキサゾスルフィル
5	24307-26-4	メピコートクロリド
6	148477-71-8	スピロジクロフェン
7	374726-62-2	マンジプロパミド
8	1861-32-1	クロルタルジメチル
9	14698-29-4	オキシリニック酸
10	2061933-85-3	イソシクロセラム
11	1651191-47-7	シクロピラニル
12	2797-51-5	キノクラミン
13	18409-60-3	シフルフェナミド
14	148-79-8	チアベンダゾール
15	2921-88-2	クロルピリホス

テキサス A&M 大学の Ivan Ryusin 先生から提供された化学物質リストも含めて価格調査により、39 物質から 26 物質に減少した。

D. 考察・結論

DRP 作成について、SPSF におけるワークプランでは 2026 年 5 月に DRP ドラフトを提出する予定であったが、DRP の基となる総説の作成が大幅に遅れており、下記のようにワークプランを修正(赤字)する必要が生じた。

(6) Submission of the draft DRP by the ad hoc drafting team ('26.5→'27.2-3)

(7) Review by the OECD metabolism and toxicokinetics expert group ('26.9→'27.6)

(8) Periodic teleconferences between expert groups ('26.9-'27.1)

Teleconference: every 1 month, in person meeting: kick-off & progress

→Submission of the revised DRP ('27.12)

(9) Approval of the draft DRP at OECD

WNT meeting ('27.4→'28.4)

上記ワークプランを実行するため、2026年度の早期に総説を投稿し、その投稿原稿を基に DRP 作成グループにてテレカンを実施する必要がある。2026年5月には MPS World Summit が開催されることから、関係者での打ち合わせにより、下記のようなスケジュールが提案された。

2026年5月：MPS World Summit (ワシントン DC) にて DRP 作成メンバーを確定 (6月末のテレカン実施も含めて話を進めておく)

この段階で総説原稿が受理されていることが望ましいが、少なくとも査読結果 (revision) が返却されている状況が望ましい。2026年6月末：DRP 作成メンバーにてテレカン実施 (6/24, 26, 29日 20:00～候補日時)

化合物選定については、分類した医薬品について代謝経路を確認すると、複数の酵素による代謝を受けるものが多く残っていた。また、特定のクラスに多くの薬剤が分類されるという結果になった。複数酵素で代謝を受ける薬剤の評価は結果の解釈が困難になることが予想されるため、代謝経路が比較的単純な薬剤が望ましいと考える。

化学物質については、劇薬を除いてしまうと合計 18 物質にまで減少してしまうため、現時点では劇薬を除く必要はないと判断した。また、残っている物質の中には、溶媒として用いられている DMSO や様々な製品の材料として用いられているポリエチレングリコールも含まれており、これらを被験物質として残すことに疑問がある。

従って、薬剤・化学物質リストから価格や安定性を基に選定する方法ではなく、3×3 に分

類した物質が価格や安定性の条件を満たすかを確認する逆の選定方法が適切なのではないかと考えており、今後そのような方針で選定を進める予定である。また、6/18 に予定されている会議までに 100 物質 (医薬品 75%、化学物質 25%) のリストを作成する。

E. 研究発表

E-1. 論文発表

Negoro R, Deguchi S, Yamazaki D, Takayama K, Fujita T. Genome edited intestine liver on a chip system for integrated intestinal hepatic drug absorption and metabolism evaluation. Sci Rep. 15(1):38609, 2025.

E-2 学会発表

1. 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における考慮事項. 第15回レギュラトリーサイエンス学会学術大会, 2025/9/6
2. 山崎大樹. 生体模倣システム(MPS)の行政的利活用に向けた動向. 日本薬学会第146年会, 2026/3/28

F. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

【BCSクラスII and IVを排除（40物質）】

Gut absorption

【半減期10 h以上を排除】

	High (BCS class I)	Moderate (BCS class I / III)	Low (BCS class III)
Liver Metabolism	P450/ GSH conj. BDDCS class I and II) Antipyrine, Caffeine, Cyclophosphamide, Fosamprenavir calcium, Isoniazid, Nifedipine, Norethindrone, Quinidine Sulfate dihydrate, Rosiglitazone maleate, Theophylline anhydrous, Tramadol, Valproic acid (12うち重複1)	Dexamethasone, Levamisole (2)	 (0)
	Gluc. Sulf. Hydrolysis BDDCS class I and II) Levodopa, Metronidazole, Prednisolone, Salicylic acid, Valproic acid , Zidovudine (6うち重複1)	Abacavir sulfate (1)	Propylthiouracil, (1)
	Low/none (BDDCS class III and IV) Albuterol sulfate, Ethambutol (Di)hydrochloride, Ketorolac tromethamine, Levofloxacin, Solriamfetol, Stavudine (6)	Acyclovir sodium, Captopril, Lamivudine (3)	Cimetidine, Didanosine, Famotidine, Methyldopa, Penicillamine, Ranitidine Hydrochloride, Trichlormethiazide, Trimethoprim, Zalcitabine (10)

図 4 BCS クラス II および IV 物質を排除、半減期 10 時間以上の物質を排除した場合の分類

【BCSクラスII and IVを排除せず（54物質）】

Gut absorption

【半減期10 h以上を排除】

	High (BCS class I and II)	Moderate (BCS class I / III and II / IV)	Low (BCS class III and IV)
Liver Metabolism	P450/ GSH conj. BDDCS class I and II) Antipyrine, Caffeine, Chlorzoxazone, Cyclophosphamide, Fosamprenavir calcium, Glipizide, Isoniazid, Lansoprazole, Nifedipine, Norethindrone, Phenazopyridine hydrochloride, Phenytoin sodium, Quinidine Sulfate dihydrate, Rosiglitazone maleate, Theophylline anhydrous, Tolmetin , Tramadol, Valproic acid (19うち重複2)	Albendazole, Dexamethasone, Levamisole, Pyrantel pamoate , (4うち重複1)	 (0)
	Gluc. Sulf. Hydrolysis BDDCS class I and II) Levodopa, Metronidazole, Papaverine hydrochloride, Prednisolone, Salicylic acid, Tolmetin , Valproic acid , Zidovudine (8うち重複2)	Abacavir sulfate, Pyrantel pamoate , (2うち重複1)	Propylthiouracil, (1)
	Low/none (BDDCS class III and IV) Albuterol sulfate, Ethambutol (Di)hydrochloride, Ketorolac tromethamine, Levofloxacin, Nitrofurantoin, Ofloxacin, Solriamfetol, Stavudine (8)	Acyclovir sodium, Captopril, Lamivudine, Sulfadiazine (4)	Chlorothiazide sodium, Cimetidine, Didanosine, Famotidine, Methyldopa, Norfloxacin, Penicillamine, Ranitidine Hydrochloride, Trichlormethiazide, Trimethoprim, Zalcitabine (11)

図 5 半減期 10 時間以上の物質のみを排除した場合の分類

【BCSクラスII and IVを排除せず（58物質）】

Gut absorption

【半減期20 h以上を排除】

	High (BCS class I and II)	Moderate (BCS class I / III and II / IV)	Low (BCS class III and IV)
Liver Metabolism	P450/ GSH conj. BDDCS class I and II) Antipyrine, Caffeine, Chlorzoxazone, Cyclophosphamide, Fosamprenavir calcium, Glipizide, Isoniazid, Lansoprazole, Nifedipine, Norethindrone, Phenazopyridine hydrochloride, Phenytoin sodium, Quinidine Sulfate dihydrate, Sulfamethoxazole, Rosiglitazone maleate, Theophylline anhydrous, Tolmetin , Tramadol, Valproic acid (20うち重複2)	Albendazole, Dexamethasone, Levamisole, Pyrantel pamoate , (4うち重複1)	 (0)
	Gluc. Sulf. Hydrolysis BDDCS class I and II) Levodopa, Metronidazole, Papaverine hydrochloride, Prednisolone, Salicylic acid, Tolmetin , Valproic acid , Zidovudine (9うち重複2)	Abacavir sulfate, Pyrantel pamoate , (2うち重複1)	Propylthiouracil, (1)
	Low/none (BDDCS class III and IV) Albuterol sulfate, Amantadine hydrochloride, Ethambutol (Di)hydrochloride, Ketorolac tromethamine, Levofloxacin, Nitrofurantoin, Ofloxacin, Solriamfetol, Stavudine (9)	Acyclovir sodium, Captopril, Lamivudine, Sulfadiazine (4)	Chlorothiazide sodium, Cimetidine, Didanosine, Famotidine, Fexofenadine hydrochloride, Methyldopa, Norfloxacin, Penicillamine, Ranitidine Hydrochloride, Trichlormethiazide, Trimethoprim, Zalcitabine (12)

図 6 半減期 20 時間以上の物質のみを排除した場合の分類