

厚生労働科学研究費補助金（化学物質リスク研究事業）
分担研究報告書

リスク評価に向けた DynaLux/c の改良

研究分担者 大久保 佑亮 国立医薬品食品衛生研究所

研究分担者 福田 淳二 横浜国立大学

研究要旨

化学物質が胚・胎児発生に及ぼす影響は、ヒトと実験動物の種差が大きいことが知られている。そのため、従来の発生毒性試験では複数の動物種を多数用いた動物実験を通じてヒトへの外挿性を高める手法が取られてきた。しかし、このような試験系は高コストであり、動物福祉の観点からも動物実験の代替法の開発が強く求められている。一方で、受精卵から胎児に至るまでの複雑な発生過程を細胞レベルで正確かつ網羅的に再現することは極めて困難であり、現在のところ実用に耐える in vitro 試験系は確立されていない。これまで我々は、胚・胎児発生が少数のシグナル伝達相互作用によって制御される点に着目し、化学物質のシグナルかく乱作用を基に発生毒性を評価する DynaLux/c を開発してきた。DynaLux/c は動物を用いた従来の発生毒性試験とは概念的に異なる細胞ベースの試験法であり、高い正確性と網羅性を有するだけでなく、96 穴プレートを用いて一週間程度で実験を完了できるため、高スループットかつ低コストという特徴を持つ。しかしながら、現在の段階ではハザード評価が主眼であり、化審法などの行政判断に必要なリスク評価に用いるには、毒性強度を定量評価できる指標を取得する必要がある。

本研究の目的は、DynaLux/c を改良し、ヒトへの外挿性が高くリスク評価にも活用できる新たな NAM (New Approach Method) を確立するとともに、公定化を目指すことである。具体的には、定量的な有害性評価指標を得る仕組みを構築し、将来的に OECD テストガイドライン(TG)として承認されるように研究を推進する。

本分担研究では、DynaLux/c にリアルタイム発光測定装置(KronosHT)を導入し、48 時間の連続した FGF シグナルの下流の血清応答因子のかく乱作用を計測した。溶媒対照に対する化学物質のシグナルかく乱面積を Area Between the Curve (ABC) として化学物質のシグナルかく乱作用を指標として用いた。陽性対照物質および陰性対照物質を用いた検討では、33 種中 32 種が既知分類と一致した。(ハザード評価)。また、リスク評価を可能とするために、各濃度の ABC 値を基に発生毒性を評価可能な解析法の開発に取り組んでいる。

A. 研究目的

化学物質による胚・胎児発生への影響は、ヒトと実験動物の種差が大きいことが知られている。そのため、従来の発生毒性試験では複数の動物種を多数用いた動物実験によってヒトへの外挿性を高めてきた。しかしながら、このような試験系は高コストであるうえに、動物福祉の観点からも動物実験代替法の開発が強く求められている。一方で、受精卵から胎児に至るまでの複雑な発生過程を細胞レベルで正確かつ網羅的に再現することは非常に困難であり、現在のところ実用に耐える *in vitro* 試験系は確立されていない。

そこで、我々は、胚・胎児発生が少数のシグナル伝達相互作用によって制御される点に注目し、化学物質のシグナルかく乱作用を基盤とした発生毒性評価法「DynaLux/c」を開発してきた (iScience 等)。DynaLux/c は、動物を用いた従来の発生毒性試験とは概念的に異なる細胞ベースの試験法であり、高い正確性と網羅性を有するだけでなく、96 穴プレートを用いて一週間程度で実験を完了できるため、高スループットかつ低コストという特徴を持つ。しかしながら、現在の段階ではハザード評価が主眼であり、化審法などの行政判断に必要なリスク評価に用いるには、毒性強度を定量評価できる指標を取得する必要がある。

本研究の目的は、DynaLux/c を改良し、ヒトへの外挿性が高くリスク評価にも活用できる新たな NAM (New Approach Method) を確立するとともに、公定化を目指すことである。具体的には、定量的な有害性評価指標を得る仕組みを構築し、OECD テストガイドライン (TG) として承認されるように研究を推進する。化審法の審査においては、一般毒性 (28 日間反復投与毒性) に加えて生殖発生毒性試験や発がん試験の情報が要求されるが、GLP 準拠の発生毒性試験や発がん試験は高コストかつ長期間を要するため、既存情報が十分に

整っているとは言い難い。そのため、低コスト・短期間で信頼性の高い生殖発生毒性情報を提供可能な試験法の開発が強く望まれている。

本研究では、発生毒性評価の専門家 (桑形麻樹子)、公定化に関する専門家 (平林容子: JaCVAM)、業界団体および国際的な合意形成に関わる専門家 (小島肇: 日化協 LRI 顧問) らが連携し、さらに産業技術総合研究所の佐々木大輔博士 (若手) や横浜国立大学の Seo Jieun 博士 (若手・女性・国際性) などを含む研究体制を構築する。こうした専門知識を融合させることで、DynaLux/c の有害性評価値の導出を可能にし、最終的にはリスク評価が可能な *in vitro* 生殖発生毒性代替法として確立することを目指す。

この新たな試験法が公定化されれば、行政判断に必要な有害性データを効率的に取得できるようになり、動物実験の削減や審査コストの軽減につながるだけでなく、新規化学物質の適切なリスク管理の下での迅速な上市を促進することが期待される。さらに、化学産業や規制当局における国際競争力を強化し、産業界のイノベーションを支えながら社会の持続的発展に寄与する可能性がある。

本分担研究では、DynaLux/c をリスク評価可能な系に改良するために、リアルタイムルシフェーラスアッセイ並びにその解析方法の構築を目的とする。

B. 研究方法

DynaLux/c の概要

DynaLux/c は発生生物学の観点から発生毒性評価を試みた NAM である。受精卵から胎児に至るまでの複雑な形態形成は、細胞の増殖・分化・相互作用などを介し、適切に制御されている。加えて、偶発的な細胞死や遺伝子発現などの内因性、及び化学物質曝露のような外因性のノイズに対する抵抗性もまた適切な発生には重要である。これまでの研究から、形態形成とノイズ抵抗性はシグナル伝達の相互作用により連結され、発生過程を制御していることが明らかになっている(図 1a)。

動物試験では、主に胎児の形態異常を基に化学物質の毒性を評価している(図 1b)。その毒性機序を考えると、化学物質がシグナル伝達相互作用をかく乱し、その結果として生じた形態異常を観察していると考えられる(図 1c)。そこで我々は、このシグナル伝達相互作用のかく乱を計測するこ

とで発生毒性を予測できると考え、リアルタイムルシフェーセンスアッセイを用いたレポーターアッセイを確立した。これまでに、ヒト iPS 細胞を用いて 5 種類 (FGF シグナルは 2 種類、WNT シグナル、BMP シグナル、TGF- β シグナルは各 1 種類) のレポーター系を樹立した。各レポーターとリガンドの組合せを検討し、レポーターの反応性を確認した。その中で、最も発光強度が強くシグナルかく乱に対する感度が高い、FGF シグナルレポーターのうち血清応答因子(Serum Response Factor: SRF)のレポーターアッセイ系を選定した(図 1d)。その特徴は、代表的なホタルルシフェーセンスに比べ約 100 倍明るく iPS 細胞での生細胞ルシフェーセンスアッセイが可能な Nluc を発光レポーターとして用いたことである。また、培養をしながらリアルタイム発光計測が可能なりアルタイム発光測定装置(Kronos HT)を組み合わせるこ

発生毒性評価法のNAMであるDynaLux/c

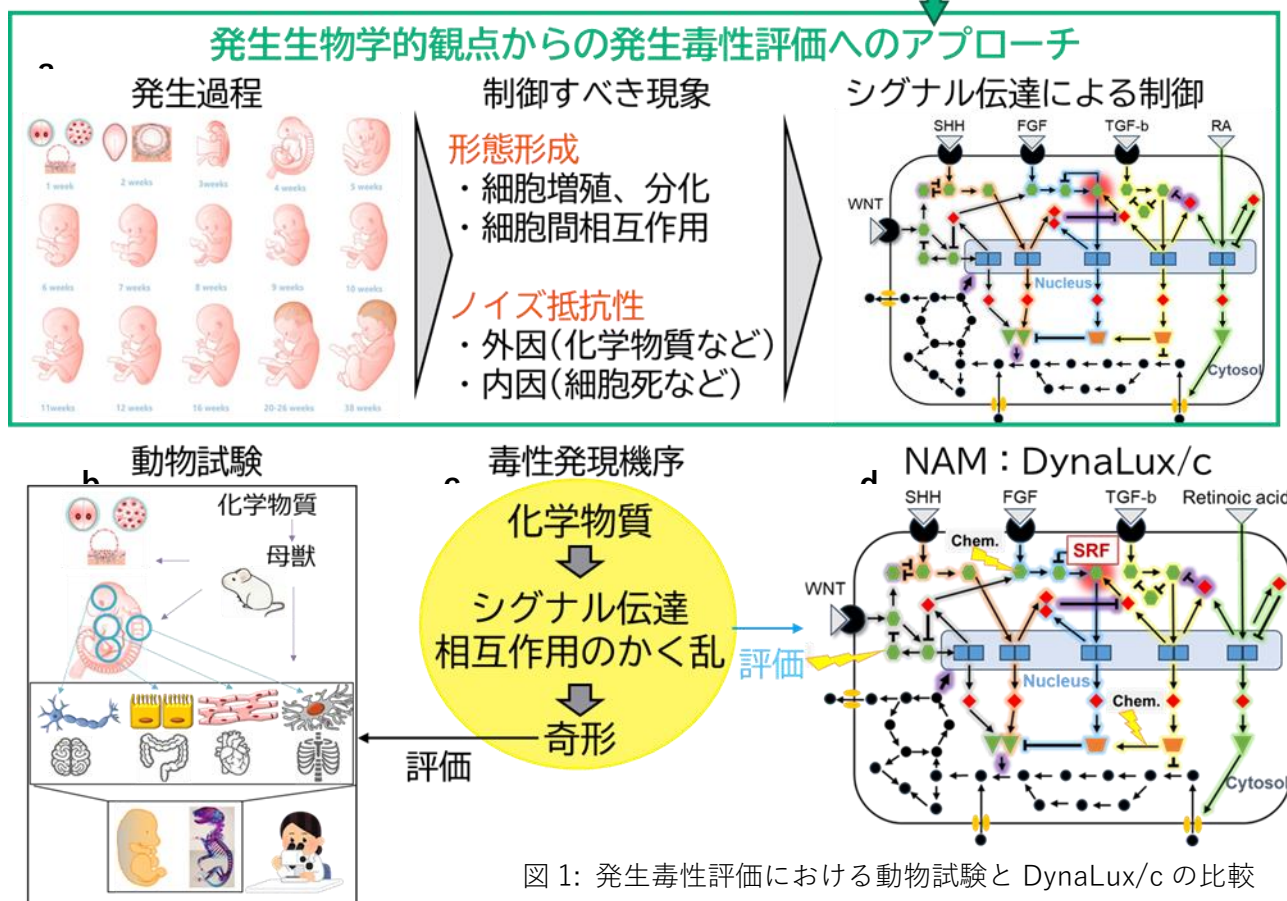


図 1: 発生毒性評価における動物試験と DynaLux/c の比較

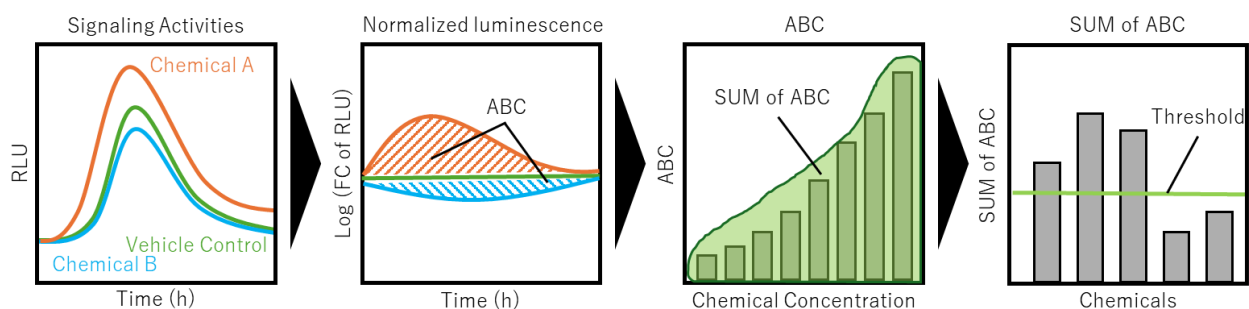


図 2: DynaLux/c によるシグナルかく乱作用の数値化

とで、細胞播種から試験終了まで1週間で終了するハイスループットな試験系を構築した。

実際のシグナルかく乱試験は、レポーターヒト iPS 細胞を 96 穴プレートに播種しコンフルエントになるまで培養する。その後、試験物質を最高溶解度もしくは IC_{65} 以下の濃度を最高濃度として 1/2 ずつ希釈した 8 段階の濃度を培地に適用し、48 時間以上リアルタイムルシフェアスアッセイを行う。化学物質のシグナルかく乱作用を比較するために、溶媒対照群に対する試験物質のシグナルかく乱面積 (Area between the curve: ABC) を各濃度で求め、それらの和をシグナルかく乱作用の値とした (SUM of ABC)。ROC 解析により閾値を設定し、発生毒性陽性と陰性を分類する (図 2)。

B-1. DynaLux/c による発生毒性物質のハザード評価並びに特性解析。標準作業手順書 (Standard Operating Procedure: SOP) の改良

昨年度は陽性対照物質 14 種 (サリドマイド (THA)、バルプロ酸ナトリウム (VPA)、メトトレキサート (MTX)、レナリドミド (LEN)、メトキシ酢酸 (MAA)、サリチル酸ナトリウム (SA)、ヒドロキシウレア (HU)、レチノイン酸 (RA)、ホウ酸 (BA)、フルオロウラシル (5FU)、塩化リチウム (LiCl)、ブロモデオキシウリジン (BrdU)、5,5-ジメチル-2,4-オキサゾリジンジオン (DMO)、ジフェンヒドラミン (DHM))、陰性対照物質 5 種 (ペニシリン (PenG)、サッカリン (SAC)、シメチジン (CM)、D-カンファ

ー (CAM)、ジメチルフタレート (DMP)) を評価した。

今年度は、陽性対照物質 9 種 (メチル水銀 (MeHg)、有機フッ素化合物 (PFAS) であるペルフルオロオクタン酸 (PFOA)、ペルフルオロオクタンスルホン酸 (PFOS)、コロナ治療薬であるモルヌピラビル (MOV)、レムデシビル (RDV)、エンシトレビル (ENS)、バリシチニブ (BARI)、抗がん剤であるドキソルビシン (DOXO)、エトポシド (ETP))、陰性対照物質 5 種 (アクリルアミド (AcA)、サキサグリプチン (SAXA)、ビルダグリプチン (VILD)、ニルマトレビル (NMV)、リトナビル (RTV)) を引き続き試験した (表 1)。

これまでの研究において 33 種類の試験データが蓄積されてきた。これらのデータを基に、リスク評価法の開発を進めた。

また、技術移転を目的としたコンソーシアムにおいて、改良した SOP を配布し、次年度に実施予定の DynaLux/c の技術移転に関する意見を収集した。

(倫理面への配慮)

該当なし。

C. 研究成果および考察

試験の成立には 96 穴プレートの各 Well の細胞密度が重要な要素である。そのため、昨年度に作成した SOP では、培養スケジュールの厳格な管理、96 穴プレートのエッジ効果の抑制、細胞培養時の温度の維持の 3 点を厳格化することで細胞密度の均一化を試み、施設内において再現性の高い

波形データを得られるようになった。今年度は円滑な施設間の技術移転を見据え、さらなる技術的な課題を抽出し、SOP の改良を行った。まず、試験に使用しない 96 穴プレートの外周の Well にもレポーター細胞を播種することで、Well 間のシグナル波形が安定した (図 3)。次に、ヒト iPS 細胞では継代ごとに倍化時間が変動することがあり、播種細胞数をそろえるだけでは、細胞密度の安定には不十分であることが分かった。そこで、施設内の背景データと直前の細胞倍化データから、播種細胞数を補正することで、細胞培養の安定性が向上した (図 4)。

次に DynaLux/c による化学物質のシグナルかく乱作用を測定した。図 2 に示した手法で、試験物質の各濃度のかく乱面積 (Area between the curve: ABC) からシグナルかく乱作用を数値化すると共に、これらの ABC の和 (Sum of ABC) を求めた。ROC 曲線解析により閾値を用いて、Sum of ABC に基づくハザード分類を行ったところ、本データセットでは、陽性対照物質 23 種と陰性対照物質 10 種のうち 32 種が既知分類と一致した。(図 5)。

一方で、陽性対照物質である HU、DMO、ENS と、陰性対照物質である SAXA、VILD は、Sum of ABC 値が近接しており、試験実施環境によっては判定結果が変動する可能性が示唆された。これは、DynaLux/c における試験濃度設定が、培地中での溶解性や細胞毒性といった化学物質固有の特性に依存するためと考えられる。例えば、SAXA および VILD については、ICH S5 (R3) の添付資料に記載された Cmax がそれぞれ 0.024 $\mu\text{g/mL}$ および 0.524 $\mu\text{g/mL}$ であるのに対し、本試験における最高試験濃度は 500 $\mu\text{g/mL}$ および 250 $\mu\text{g/mL}$ であり、臨床曝露量と比較してそれぞれ 20833 倍および 477 倍に相当する。つまり、化学物質によっては溶けにくい、もしくは溶けすぎるといった課題が生じている。したがって、DynaLux/c を用いたハザード評価にあたっては、試験系の感度のみな

らず、実際の曝露レベルを踏まえた解釈が重要である。なお、アクリルアミドは偽陽性と判断され、唯一の誤判定であった。その理由をこれまでに収集した毒性情報を基に考察した。アクリルアミドは精巢毒性があり生殖毒性物質である。妊娠動物に投与すると、母毒性が強く発現し、胚・胎児致死作用が観察されているが、生存胎児に形態異常を含め発達への影響は認められないことから、催奇形性は無しと分類されている。本剤のように母動物の感受性範囲が狭く胚・胎児致死作用のみが認められる化学物質が他にないかという点にも留意をしていく予定である。

本研究の目的は、DynaLux/c を改良し、ヒトへの外挿性が高くリスク評価にも活用できる新たな NAMs を確立することである。そこで、これまで得られたデータを基に DynaLux/c のリスク評価法の開発を行った。33 種の化学物質の ABC 値を比較したところ、陰性対照物質では VILD と SAXA の高用量群以外の物質は ABC 値が押しなべて低いこと、陽性対照物質の多くは用量相関を示すこと、明確な用量相関を示さない物質においても、陰性対照物質の ABC 値に比べ高い値を示すことが示唆された (図 6)。現在、これらの結果を基にしたリスク評価法を開発しており、リスク評価法としての有用性を検証している (詳細は次年度に報告する)。

これらの結果は、DynaLux/c においても、Point of Departure (PoD) の設定が可能かもしれないことを示唆している。班員やコンソーシアムのメンバーと協議しながら、IVIVE を考慮したリスク

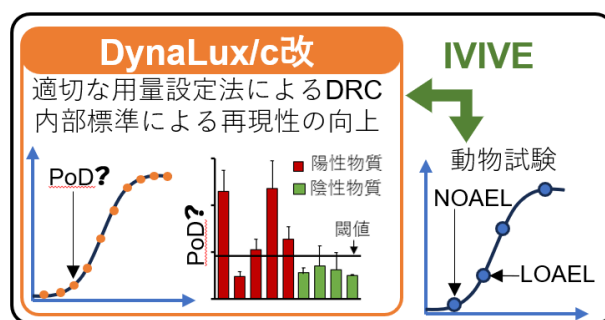


図 7: IVIVE に向けた計画の概要

評価への道筋をつけ、公定化に向けた協議を続ける(図7)。波形データを図8、溶媒対照に対するLog2変化率を図9、各濃度のABC値を図10として示す。

D. 結論

本研究は、DynaLux/cを改良し、ヒトへの外挿性が高くリスク評価にも活用できる新たなNAMsを確立するとともに、公定化を目指すことである。

今年度の研究の成果として、施設間の技術移転を円滑にするためにSOPを改良した。昨年度に引き続きDynaLux/cを実施し、本年度までに陽性対照物質23種、陰性対照物質10種のハザード評価を行い97%の正確度で分類可能であった。唯一の偽陽性となったアクリルアミドは、母動物の感受性範囲が狭く胚・胎児致死作用のみが認められる化学物質であり、評価には慎重を期す必要がある。また、評価物質の各濃度のABC値を基に閾値を設定する解析法を検討し、これらのデータからリスク評価法の開発を行った。今後、その有用性および統計学的妥当性を検証する。

E. 研究発表

1.論文発表

1. K. Murayama, K. Mizota, R. Matsuura, Y. Okubo, Y. Nakajima, A. Suzuki, J. Fukuda: Developmental Toxicity Assay Based on Real-Time Monitoring of Fibroblast Growth Factor Signal Disruption in Human Induced Pluripotent Stem Cells. J. Vis. Exp. (224), e68910, doi:10.3791/68910 (2025).
2. JE. Yun, J. Seo, J. Koh, SA. Im, KY. Hong, Y. Son, DW. Jeong, J. Fukuda, JW. Park, YS. Chun, Cancer Manipulates Adjacent Adipose Tissue to Exploit Fatty Acids via HIF-1 α /CCL2/PPAR α Axis: A Metabolic Circuit to Support Tumor Progression, Advanced Science (IF=14.1), e15186 (2025) doi.org/10.1002/advs.202515186
3. T. Asaba, S. Hamano, A. Nanmo, J. Seo, T. Kageyama, J. Fukuda, Human iPSC-Derived

Cerebral Organoids Reveal Oxytocin-Mediated Protection Against Amyloid- β Pathology, Regenerative Therapy (IF=3.4), 30, 259-267 (2025)

4. T. Kageyama, J. Seo, L. Yan, S. Hamano, J. Fukuda, Serotonin activates dermal papilla cells and promotes hair growth, Scientific Reports (IF=3.8), 15, 24525 (2025) doi: 10.1038/s41598-025-10716-5
5. T. Asaba, T. Osaki, K. Murayama, S. Hamano, T. Kageyama, J. Fukuda, Effects of vascular endothelial cells on the neurite outgrowth of nerve cells, Journal of Bioscience and Bioengineering (IF=2.3), 140, 3, 168-173 (2025) doi.org/10.1016/j.jbiosc.2025.05.010
6. Y. Migita, T. Kageyama, N. Ito, N. Esaka, A. Nanmo, J. Seo, Y. Lei, S. Hamano, and J. Fukuda, Preparation of hair follicle germs using centrifugal forces for hair regenerative medicine, Journal of Bioscience and Bioengineering (IF=2.3), 139, 6, 445-450 (2025) doi.org/10.1016/j.jbiosc.2025.04.002
7. DW. Jeong, JE. Yun, KH. Lee, GH. Moon, KY. Hong, JW. Park, J. Fukuda, YS. Lee, YS. Chun, Comprehensive understanding of context-specific functions of PHF2 in lipid metabolic tissues, Scientific Reports (IF=3.8), 15, 9074 (2025) doi.org/10.1038/s41598-025-93438-y
8. J. Seo, K. Matsumoto, A. Nanmo, S. Tu, DW. Jeong, YS. Chun, L. Yan, T. Kageyama, J. Fukuda, The role of lipids in promoting hair growth through HIF-1 signaling pathway, Scientific Reports (IF=3.8), 15, 4621 (2025) doi.org/10.1038/s41598-025-88697-8
9. S. Tu, T. Kageyama, J. Seo, Y. Zhou, J. Fukuda, Development of in vitro hair pigmentation model using hair follicle organoids, Journal of Bioscience and Bioengineering (IF=2.3), 139, 2, 141-146 (2025) doi.org/10.1016/j.jbiosc.2024.11.003

2.学会発表

1. Okubo Y, Mizota K, Murayama K, MatsuuraR, Mootha A, Kitajima S, Hirabayashi Y,Nakajima Y,Fukuda J : Continuous Monitoring of Signal Disruption in Human iPSCs for Developmental Toxicity

Assay. 20th INTERNATIONAL CONGRESS OF DEVELOPMENTAL BIOLOGY (2025.6.18)

2. Okubo Y, Murayama K, Matsuura R, Mootha A, Hirabayashi Y, Nakajima Y, Fukuda J: Real-time Monitoring of Signal Disruption in Human iPSCs for Toxicity Assay. Joint Meeting of JSCB 77th & JSDB 58th(2025.7.16-17)
3. 村山航己, 佐藤 花音, 松浦利絵子, Archana Mootha, 平林容子, 中島芳浩, 大久保佑亮, 福田淳二: ヒト iPS 細胞を用いたシグナルかく乱指標による精巢毒性物質の評価、第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025.7.2)
4. 佐藤花音, 村山航己, 松浦利絵子, Mootha Archana, 平林容子, 中島芳浩, 大久保佑亮, 福田淳二: ヒト iPS 細胞を用いた新型コロナウイルス感染症治療薬のシグナルかく乱を基にした発生毒性評価、第 52 回日本毒性学会学術年会 (2025.7.2)
5. 大久保佑亮, 松浦利絵子, 村山航己, 佐藤 花音, 石川亜佐美, 中元颯馬, 平林容子, 中島芳浩, 福田淳二: シグナルかく乱に着目した in vitro 発生毒性試験とそのリスク評価への展開、第 65 回日本先天異常学会学術集会 (2025.7.27)
6. 村山航己, 佐藤 花音, 松浦利絵子, 石川亜佐美, 中元颯馬, 平林容子, 中島芳浩, 大久保佑亮, 福田淳二: ヒト iPS 細胞を用いたシグナルかく乱指標による精巢毒性物質の評価、第 65 回 日本先天異常学会学術集会 (2025.7.25)
7. 大久保佑亮: シグナルかく乱を指標とする発生毒性試験法 DynaLux/c の開発と行政受入に向けた取り組み、日本動物実験代替法学会 第 38 回大会 (2025.11.1)
8. 村山航己, 佐藤 花音, 松浦利絵子, 石川亜佐美, 中元颯馬, 平林容子, 中島芳浩, 大久保佑亮, 山田隆志, 福田淳二: ヒト iPS 細胞を

用いたシグナルかく乱指標による生殖毒性物質の評価、日本動物実験代替法学会 第 38 回大会 (2025.11.1)

9. 佐藤 花音, 村山航己, 松浦利絵子, 中元颯馬, 石川亜佐美, 平林容子, 中島芳浩, 大久保佑亮, 山田隆志, 福田淳二: ヒト iPS 細胞を用いたシグナルかく乱に基づく新型コロナウイルス感染症治療薬の発生毒性評価、日本動物実験代替法学会 第 38 回大会 (2025.11.1)
10. 村山航己, 溝田華柊, 松浦利絵子, 平林容子, 中島芳浩, 大久保佑亮, 福田淳二: ヒト iPS 細胞を用いたシグナルかく乱作用を基にした発生毒性評価法における補完的なシグナル経路の検討. 日本動物実験代替法学会 第 37 回大会 宇都宮
11. 中元颯馬, 村山航己, 佐藤花音, 松浦利絵子, 石川亜佐美, 平林容子, 中島芳浩, 福田淳二, 大久保佑亮, 山田隆志: ヒト iPS 細胞を用いた PFAS のシグナルかく乱作用を基にした発生毒性評価: PFAS への適用性と信頼性の検証、日本動物実験代替法学会 第 38 回大会 (2025.11.1)

F. 知的財産権の出願・登録状況

該当なし

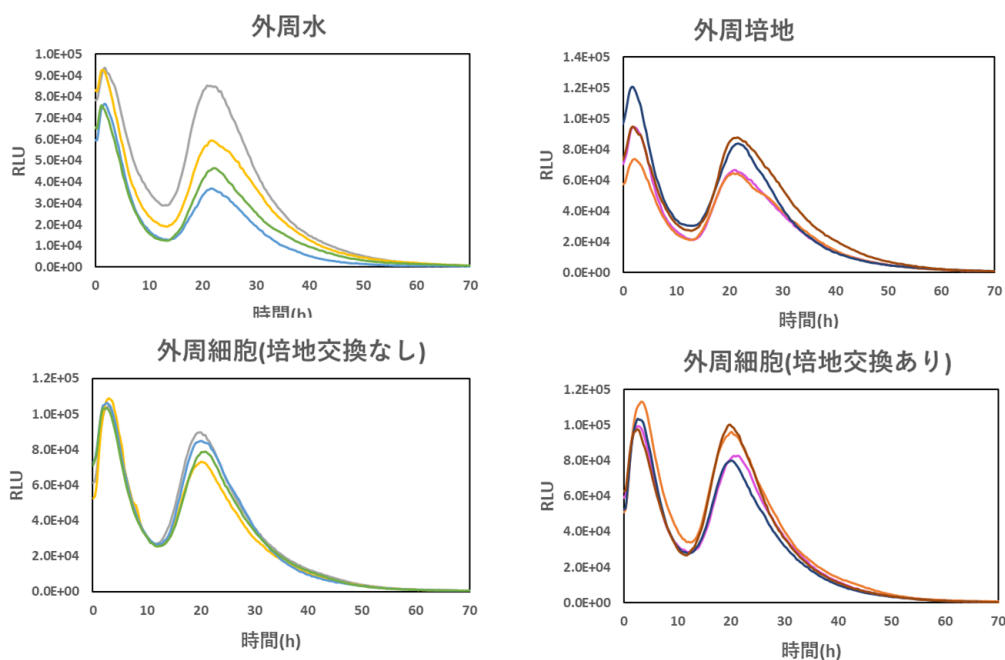


図 3: 96 穴プレートの外周への細胞播種によるシグナル波形の Well 間安定性.

DynaLux/c においては 96 穴プレートの内側 60 Well を使用する。レポーター細胞播種時に、外周の 36 Well に水、培地、レポーター細胞（培地交換の有無）を加えた。その結果、外周にも細胞を播種することで、シグナル波形の Well 間のブレが少なくなった。横軸は時間を、縦軸は発光量を示す。

iPS細胞増殖安定化 (DT平滑化による播種数補正)

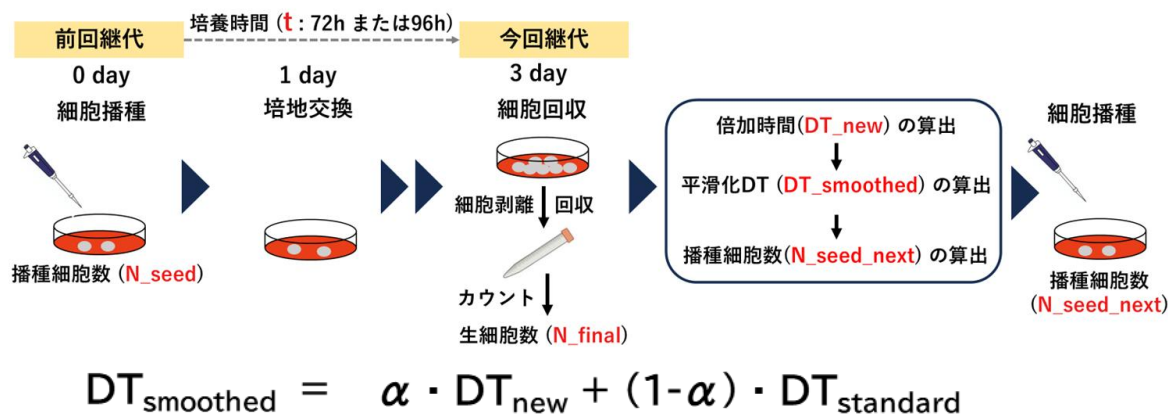


図 4: ヒト iPS 細胞増殖安定化の概要.

まず、直前の倍化時間 (DT_new) 及びこれまでの施設背景値 (DT_standard) から、平滑化 DT (DT_smoothed) を計算する。α は係数であり、我々の研究室では 0.4 としている。

DTsmoothed を用いて播種細胞数(N_seed_next)を算出することで、安定した iPS 細胞の培養が可能となる。

表 1：令和 7 年度試験物

FF

	ラベル	名前	略語	CAS No.	溶媒	最高濃度 (μg/mL)	判定
1	陽性物質	メチル水銀	M eHg	115-09-3	DM SO	0.58	正
2	陽性物質	ペルフルオロオクタン酸	PFO A	335-67-1	DM SO	200.00	正
3	陽性物質	ペルフルオロオクタンスルホン酸	PFO S	1763-23-1	DM SO	150.00	正
4	陽性物質	モルヌピラビル	M O V	2349386-89-4	DM SO	100.00	正
5	陽性物質	レムデシビル	RD V	1809249-37-3	DM SO	4.03	正
6	陽性物質	エンシトレルビル	EN S	2647530-73-0	DM SO	200.00	正
7	陽性物質	バリシチニブ	BARI	1187594-09-7	DM SO	6.25	正
8	陽性物質	ドキシソルビシン	D O X O	25316-40-9	DM SO	124.80	正
9	陽性物質	エトポシド	ETP	33419-42-0	DM SO	160.00	正
10	陰性物質	アクリルアミド	A cA	79-06-1	DM SO	500.00	誤
11	陰性物質	サキサグリブチン	SAXA	709031-78-7	DM SO	500.00	正
12	陰性物質	ビルダグリブチン	V LD	274901-16-5	DM SO	250.00	正
13	陰性物質	ニルマトレビル	N M V	2628280-40-8	DM SO	100.00	正
14	陰性物質	リトナビル	RTV	155213-67-5	DM SO	3.13	正

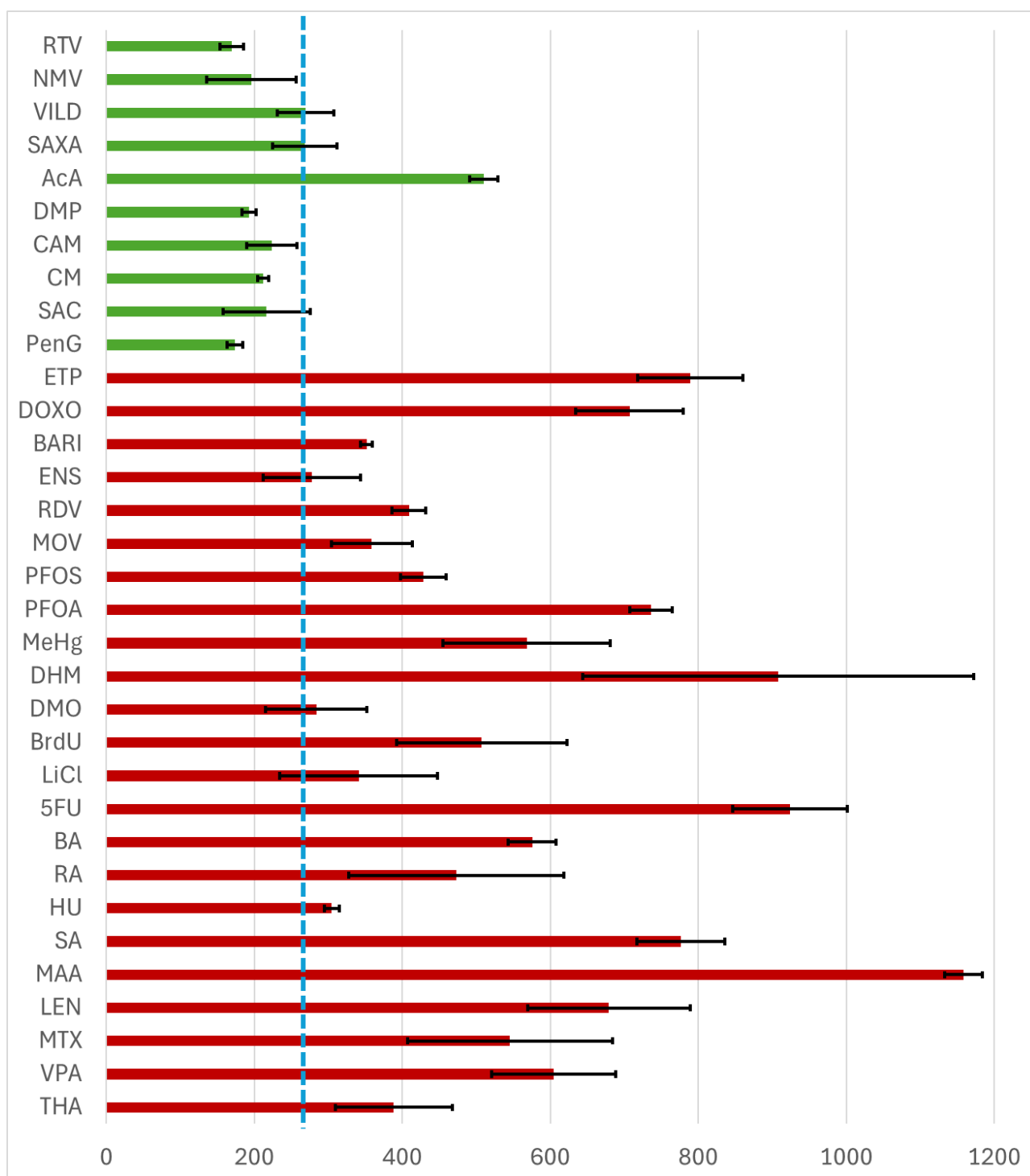


図 5: 評価物質の Sum of ABC.

横軸は評価物質のシグナルかく乱値(Sum of ABC)を示す。水色の波線は、閾値を表している。赤色、緑色は、それぞれ発生毒性陽性対照物質、陰性対照物質を意味する。各棒は 3 回の独立実験の平均値を、エラーバーは独立実験間の標準偏差 (SD) を示す。各独立実験では duplicate の平均値を用いた。

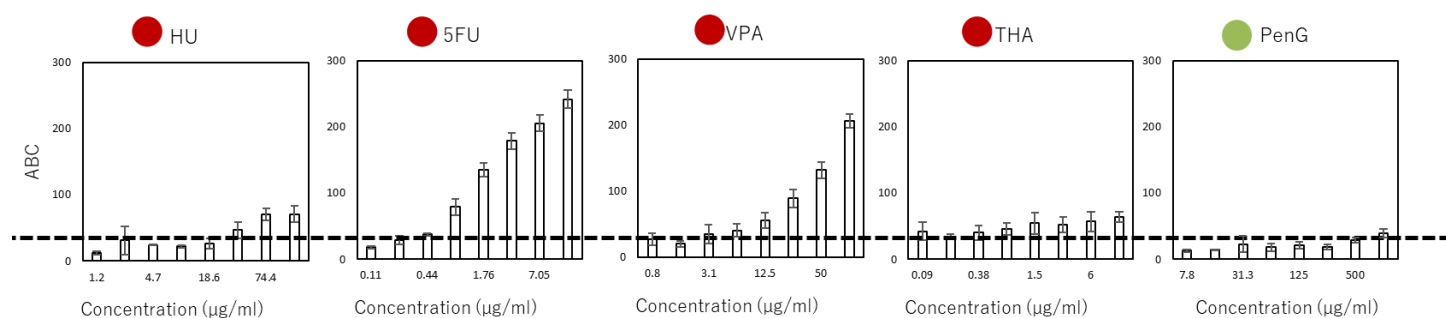


図 6: ABC を用いたリスク評価法の検討.

評価物質のシグナルかく乱値 ABC。横軸は評価物質の各濃度のシグナルかく乱値(ABC)を示す。黒色の波線は、暫定閾値を表している。赤色丸、緑色丸は、それぞれ発生毒性陽性対照物質、陰性対照物質を意味する。各棒は 3 回の独立実験の平均値を、エラーバーは独立実験間の標準偏差 (SD) を示す。各独立実験では duplicate の平均値を用いた。

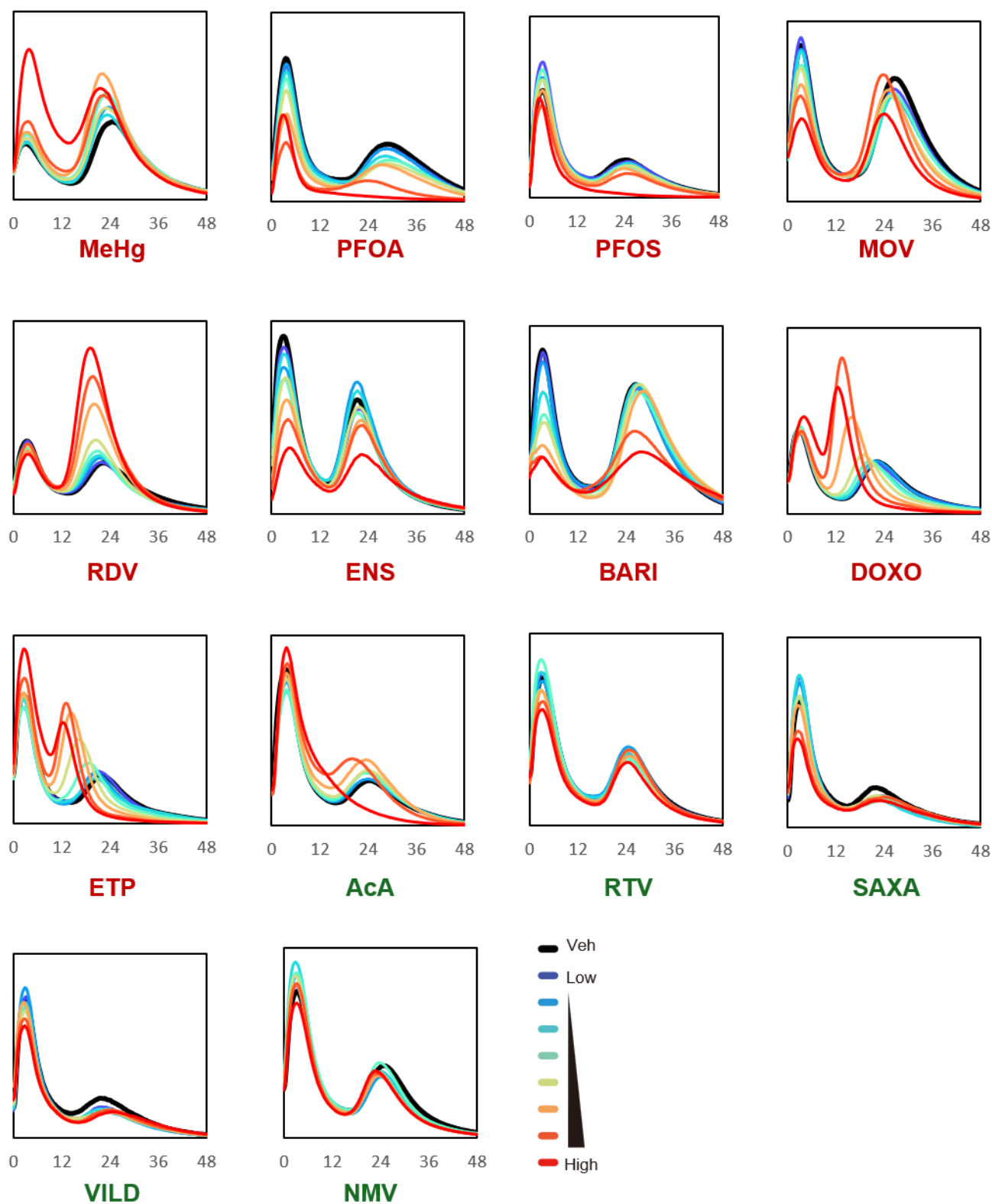


図 8：リアルタイム FGF-SRF シグナルルシフェレースアッセイ。

グラフの下の物質名の文字の色は赤色が陽性対照物質を、緑色が陰性対照物質を示す。グラフの曲線の色は溶媒対照及び試験濃度を表す。試験濃度は表 1 を参照。グラフは各物質の代表例。

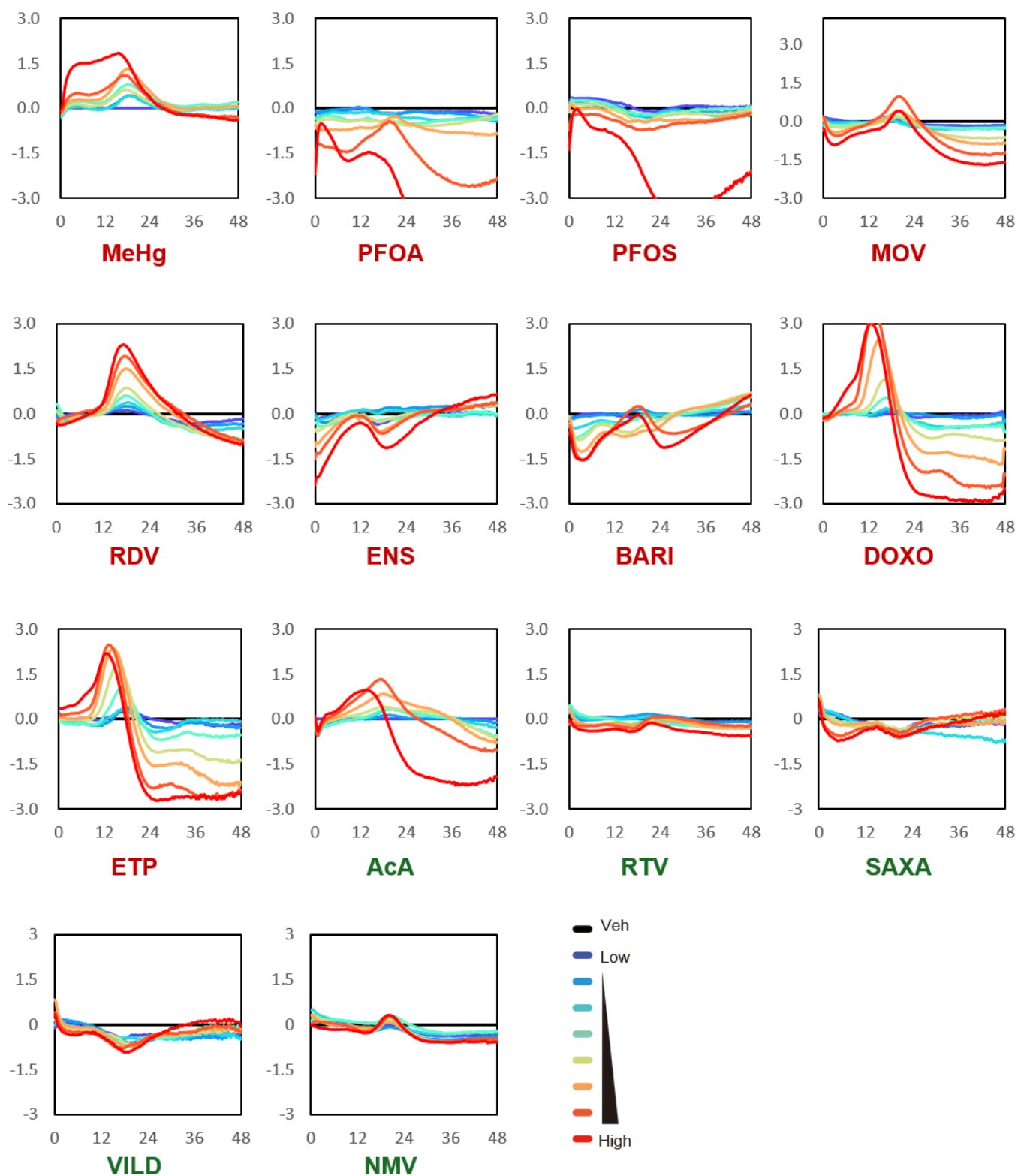


図 9：溶媒対照に対する Log2 変化率。

グラフの下に物質名の文字の色は赤色が陽性対照物質を、緑色が陰性対照物質を示す。グラフの曲線の色は溶媒対照及び試験濃度を表す。試験濃度は表 1 を参照。グラフは各物質の代表例。

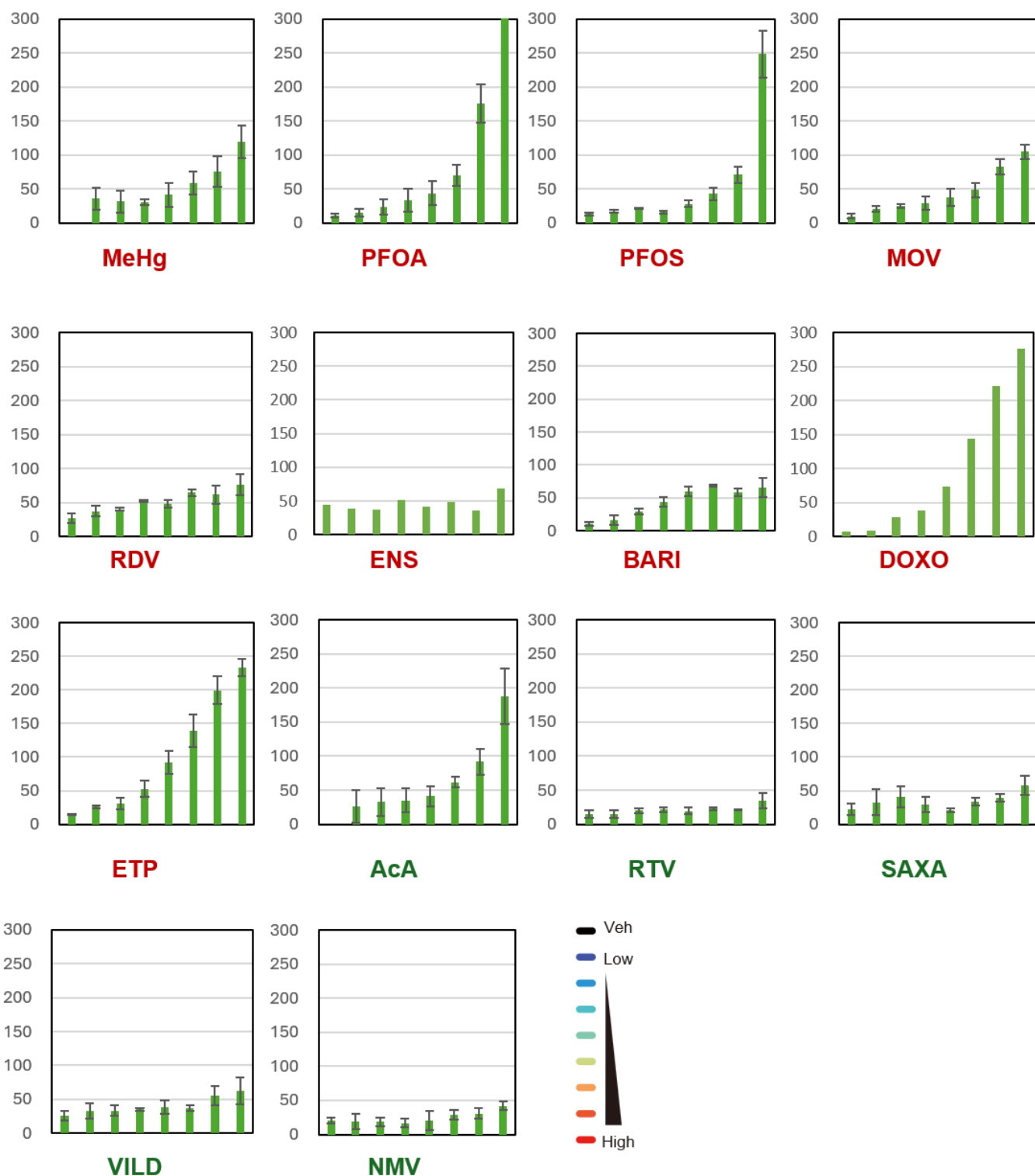


図 10：各濃度の ABC 値.

グラフの下に物質名の文字の色は赤色が陽性対照物質を、緑色が陰性対照物質を示す。グラフの曲線の色は溶媒対照及び試験濃度を表す。試験濃度は表 1 を参照。各棒は 3 回の独立実験の平均値を、エラーバーは独立実験間の標準偏差 (SD) を示す。各独立実験では duplicate の平均値を用いた。