

## 平成22年度国立医薬品食品衛生研究所 業務報告にあたって

所長 大野 泰雄  
前所長 西島 正弘

平成22年度は、東日本大震災が平成23年3月11日に宮城県沖を震源として発生し、地震およびそれに伴う大津波により岩手県から北関東にわたり大きな人的・物的被害を受けた。亡くなられた方、被害に遭われた方々にお悔やみとお見舞いを申し上げる。また、福島第一原子力発電所の被災により放射性同位元素（主に<sup>131</sup>Iと<sup>137</sup>Cs）が飛散し、多くの住民が避難を余儀なくされている。国立衛研においても、ガラス窓の一部破損、機材・書類の落下や散乱、大型機器の動揺、宿舍壁面の亀裂と建物周囲の地割れがあり、その夜、宿舍住民は隣の駒沢高校のお世話になった。飛散した放射性同位元素による汚染は福島県のみならず、関東・中部地方の飲料水・農作物にまで及び、地方衛生研究所ではそれらの検査に追われており、国立衛研も協力しているところである。被害を受けた方々および産業の速やかな復興と原子力発電所の早期安定化を願ってやまない。なお、震災の影響で3月に予定されていた日本薬学会や日本薬理学会を始めとする多くの学会の開催が中止された。

6月の鳩山内閣総辞職に伴い菅内閣が誕生し、厚生労働大臣も9月に長妻大臣から細川大臣に代わるという大きな変化があった。このような中、国立衛研は、医薬品・医療機器、食品、化学物質などの品質、安全性及び有効性を科学的に評価し、その成果を厚生行政に反映させ、国民の健康と生活環境の維持・向上に貢献するというミッションを果たすべく、医薬品・医療機器分野、食品分野、生活関連分野、生物系・安全性分野、安全情報関連分野、並びに総務部のすべてにおいて、試験・研究・調査等の数多くの業務を滞りなく遂行した。

平成22年度に国立衛研全体として取り組んだ主な事項は次の通りである。

(1) 当所の平成18年度から平成20年度の3年間の機関評価については、「厚生労働省の科学研究開発評価に関する指針」に基づき、平成22年2月に開催した評価委員会の評価結果を受けて、大学等との共同研究や連携、国立衛研独自の研究の選定、研究資金の獲得、業務の外部委託の検討、官民共同研究の推進、将来の行政ニーズを踏まえての研究等の対処方針を作成し、平成22年12月27日に厚生労働省へ提出した。また、当所に予算措置された研究課題については、平成22年3月

25日に開催した研究開発課題評価委員会において、中間評価を受けた19課題と事後評価を受けた7課題についての報告書をHPに公表した。

- (2) 平成22年11月8日に厚生労働省の第21回省内事業仕分けが行われ、当所の業務は国民の安全確保に係わるもので、国が直接行うべきとのご理解と、当所の改革案は概ね妥当との判断をいただいた。
- (3) 以前より、研究活動の活発化を目的に大学との連携を深めてきたが、平成22年度は新たに北海道大学大学院生命科学院にレギュラトリーサイエンス講座が開設され、川崎ナナ生物薬品部長が客員教授に就任した。
- (4) 昨年に引き続き、公務員としての必須事項を身につけ、今後の研究活動を円滑に実行していく為に必要な情報を伝えることを目的として、研究教育セミナーを開催し、新人職員全員および該当職員を対象に、公務員倫理、研究者倫理、および所内の各種の規程を紹介した。また、適正な放射性同位元素使用実験および病原体等の安全な取扱及び管理を進めるための講習会を開催し、法令遵守の徹底と知識および技術の向上を図った。
- (5) 昨年と同様に、所ホームページへの「お問い合わせ」への対応及び国立衛研研究等月例報告のホームページへの掲載を行い、国立衛研の業務の広報に努めた。
- (6) ヒト及びヒト由来試料および情報に関わる研究の適正化をはかるための研究倫理委員会を、平成21年度は二回開催した（8/4、11/24）。また、正副委員長会議を11回（4/26、5/31、6/28、7/28、8/31、9/27、10/25、11/29、1/31、2/28、3/25）開催し、正委員会のための事前審査および倫理的に問題が少ない案件を処理した。
- (7) 昨年と同様に、研究者の業績評価を実施し、昇給に反映させた。国家公務員に対する人事評価については、平成22年秋および平成23年春に実施した。後者の結果は平成23年夏のボーナスに反映される予定である。
- (8) 府中市移転については、移転予定地の北側に予定していた国家公務員住宅建設の凍結に伴い、移転時期のめどが立たなくなったことに関連して、平成23年3月に府中市長および市議会より厚生労働大臣宛に府中移転の見直しを求める要望書が提出された。

平成22年度の全国衛生化学協議会は神戸市で開催され（11/11～12）、例年通り、当研究所の職員が大きな活躍をした。西島所長はスイス・チューリッヒ工科大学にて開催されたLipidomic Net運営委員会（7/5～6）、スペイン・ビルバオで開催された第51回国際脂質バイオサイエンス学会（ICBL）（9/7～11）に出席した。中国北

京で開催された中国薬品生物製品検定所設立60周年記念式典に参列するとともに、引き続き開催された同検定所とILSI/HESIとの合同ワークショップに出席した(9/26~27)。また、カナダ・バンクーバーにて開催された、国際内毒素自然免疫学会(IEIIS)と白血球生物学会(SLB)合同大会に出席した(10/7~9)。

大野は、バルセロナで開催された国際トキシコロジー連合(IUTOX)の主催による第12回国際トキシコロジー会議(ICT, 7/19~23)に参加した。また、米国ワシントンで開催された米国トキシコロジー学会(SOT, 3/6~10)に参加した。また、同時に開催された動物実験代替法に関する国際協力組織であるICATMに韓国が加盟することに関する協定書の調印会議(3/8)に西島所長の代理で参加した。

今年度も本省等との併任、各種審議会への参画、医薬品医療機器総合機構や食品安全委員会の専門委員等、並びにWHO、OECD、ICH等の国際会議への参画を通じ、国立衛研の多くの職員が国内外の衛生行政に貢献した。また、学術の面でも国立衛研職員の貢献が認められ、トキシコゲノミクスに関わる産官学の共同研究の成果が認められ大野が日本学術会議会長賞を、食品衛生管理部の春日室長が学校給食の安全性向上に貢献したことに対する文部科学大臣賞を受賞した。また、生薬部の糸数七重協力研究員が和漢医薬学会奨励賞を、川原信夫客員研究員が日本生薬学会学術貢献賞を受賞した。生活衛生化学部の杉本直樹室長が日本食品化学学会学術奨励賞を、食品添加物部の多田敦子主任研究員が日本食品衛生学会奨励賞を、有機化学部の出水庸介研究員が有機合成化学協会研究企画賞を、代謝生化学部の亀山浩室長が日本食品衛生学会学術貢献賞を受賞した。なお、衛生微生物部では、今まで原因不明とされていた食中毒が「ひらめ」に寄生する「クドア」による寄生虫性食中毒であることを明らかにし、今後の予防対策構築に貢献した。これらは、国立衛研の研究レベルが高いことと社会貢献の大きさを示すものであり、今後も研究所のミッションを支える先導的な研究が一層活発に行われるよう取り組んでゆきたい。

なお、3月31日付けで、西島所長が退任し、大野が所長に昇任した。

## 総務部

部長 高見澤 博

### 1. 組織・定員

平成21年度末定員は、217名であったが、22年度にお

いては、①新素材(ナノマテリアル等)の曝露評価に係る研究業務の強化に伴う増として1名(研究員・研2級)、②加工食品中の農薬等の試験法開発に係る研究業務の強化に伴う増として1名(研究員・研2級)、③食品微生物(ウイルス)の試験研究に係る業務の強化に伴う増として1名(研究員・研2級)、④新世代遺伝子組換え食品及び組換え動物食品の検知技術及び安全性評価に係る研究業務の強化に伴う増として1名(研究員・研2級)、⑤安全性評価のための新規試験法公定化に係る研究業務の強化に伴う増として1名(研究員・研2級)、⑥先端技術を駆使した病理組織診断評価法の精緻化再構築に関する研究に係る研究業務の強化に伴う増として1名(研究員・研2級)が認められた。

また、平成22年度見直し時期到来分の①細胞・組織利用医薬品等の試験研究体制の強化に伴う定員1名(主任研究官・研3級)、②医療機器の力学試験に係る研究業務の強化に伴う定員1名(研究員・研2級)、③蓄水産食品中の動物性医薬品等の残留基準ポジティブリスト化に伴う分析法開発業務に関わる研究体制の強化に伴う定員1名(研究員・研2級)、④器具・容器包装中の内分泌かく乱化学物質に係る研究に伴う定員1名(研究員・研2級)、⑤動物実験代替法のバリデーションと評価体制に係る研究業務の強化に伴う定員1名(室長・研3級)については、見直し解除が認められた。

一方、7名の削減が行われた結果、22年度末定員は指定職2名、行政職(一)29名、行政職(二)1名、研究職184名、計216名となった。

### 2. 人事異動

- (1) 平成23年3月31日付けで西島正弘所長が退職し、同日付で大野泰雄副所長が所長に、川西徹薬品部長が副所長にそれぞれ昇任した。
- (2) 平成22年12月1日付けで小川久美子安全性生物試験研究センター病理部第三室長が安全性生物試験研究センター病理部長に昇任した。
- (3) 平成23年3月31日付けで河村葉子食品添加物部長が定年退職し、同年4月1日付けで亀山浩代謝生化学部第二室長が食品添加物部長に昇任した。

### 3. 予算

平成22年度予算の概要は、別紙のとおりである。

平成22年度の予算は「平成22年度予算編成の基本方針(平成21年12月15日閣議決定)」の基本理念に沿い、裁量的経費は対前年度約2千8百万円の減、非裁量的経費が約5千5百万円の減、施設整備費関係が約3億4千万円の減額となったため、全体としては約4億2千3百万円の減額となっている。

個別の研究費については、「乱用薬物基礎研究費」14,455千円ほか3件(72,488千円)が事業終了となり、

新たに平成22年度からは、「健康食品等による健康被害防止に必要な標準物質（標品）の整備と分析に関する研究」25,455千円、「国際動向に対応する新規安全性試験法およびその評価手法の開発」14,989千円及び「ナノマテリアルの潜在的慢性健康影響の評価手法確立に関する研究」22,652千円並びに「食品中のウイルスの高感度迅速試験法およびマネジメント手法の標準化に関する研究」9,392千円が認められた。

#### 4. 競争的研究費の機関経理

競争的研究費である厚生労働科学研究費補助金及び文部科学省の科学研究費補助金等の経理に関する事務については、機関経理により行っている。

平成22年度は、厚生労働科学研究費補助金1,244,802千円及び文部科学省所管の補助金70,130千円等、総計1,908,967千円（いずれも他機関配分額を含む）について、機関経理を行った。

#### 5. 国際協力

国際交流としては、厚生労働行政等に関する国際会議への科学専門家としての参加、国際学会あるいは外国で開催される学会での発表及び招待講演、並びに外国人研究生の受け入れを行っている。

平成22年度海外派遣研究者は、延べ221名であった。内訳は行政に関する国際会議への出席が延べ55名、その他会議・学会への出席が延べ152名、諸外国の研究活動調査・打合せ等が延べ13名、二国間共同研究への参加が1名であった。行政に関する国際会議への出席内訳は、OECDが延べ13名、FAO/WHO 合同会議が延べ10名、ICHが2名、その他が延べ30名であった。

#### 6. 移転関係

当所の移転計画については、平成21年11月に実施された行政刷新会議における事業仕分けにより、府中基地跡地に整備予定の国家公務員宿舎建設が凍結となっており、宿舎建設と一体の府中基地留保地利用計画である府中移転が大幅に遅延している状況において、平成22年7月に財務省へ移転時期を平成26年度から平成30年度に変更して特定国有財産整備計画要求書を提出した。

また、PFI手法については、国土交通省関東地方整備局が行った整備可能性検討業務の結果を基に関係機関と適否について協議したところ、①研究所のニーズ特性から性能発注に限界があること、②移転予定地の鉛による土壤汚染を発注前に汚染対策を終わらせておくためには、設計と施工を分離せざるを得ないこと、等からコスト縮減が見込めない可能性が高いため、導入しないこととした。

一方、こうした状況の中、平成23年1月に府中市長から当所所長宛に、①国立衛研の移転中止を求める1万人署名が府中市に提出されたことについてどのように受け

止めているか、②移転先の変更について関係省庁等に提案することはできないのか等の照会があった。平成23年2月に国立衛研P3施設の安全性確保については、住民に理解いただけるものと考えており、現時点では移転先の変更について関係機関に提案を行う時期ではない旨の回答をしたが、平成23年3月に府中市長及び府中市議会議長から厚生労働大臣及び関係大臣宛に、府中市への移転見直しを求める要望書が提出された。

今後、移転先地の変更を含めた計画の見直しについて、関係機関と協議を行う必要がある。

#### 7. 厚生労働科学研究費補助金の配分機関

当所においては、平成19年3月30日厚生労働省告示第67号で平成19年度より「化学物質リスク研究事業」について配分業務を委任され、平成22年度は30名に対し、計1,017,292千円配分した。

#### 8. 一般公開の開催

一般公開については、一般市民を対象として毎年1回実施されており、平成22年度は7月30日（10:00～16:00）に開催した。見学者数は177名であった。

公開内容は、各研究部のパネル展示等による研究内容の紹介や、衛研講座として「“関係ない”ではすまされない！乱用薬物の話」と「あなたは肉食系？でも生肉には気をつけて！－食中毒菌のリスク評価から」の講演を行った。

#### 9. その他（会計検査院指摘事項について）

会計検査院の平成21年度決算検査報告において、次の事項が不当事項とされた。

○添加物の安全性に関する試験等及び報告書作成の業務に係る請負契約において、契約が履行期間内に履行されていないのに履行されたとする事実と異なる内容の関係書類を作成するなどの不適正な会計経理を行い、代金を支払っていたもの（平成16年度～平成20年度：不当金額5億9,257万円）。

本件については、検収体制の強化等を図り、再発防止に万全を期すこととした。

## 平成22年度予算額

事 項		平成21年度 (A)	平成22年度 (B)	対前年度差 引増△減額 (B)-(A)
(組織)	厚生労働本省試験研究機関	3,602,701	3,180,175	△422,526
(項)	厚生労働本省試験研究所共通経費	2,208,652	2,147,465	△61,187
	国立医薬品食品衛生研究所に必要な経費	2,208,652	2,147,465	△61,187
	既定定員に伴う経費	1,983,347	1,956,697	△26,650
		0	△44,683	△44,683
	増員要求に伴う経費	0	12,295	12,295
	国立医薬品食品衛生研究所運営経費	58,990	57,182	△1,808
	安全性生物試験研究センター運営費	88,243	88,243	0
	施設管理事務経費	45,141	44,875	△266
	移転調査検討費	839	828	△11
	研究情報基盤整備費	32,092	32,028	△64
(項)	厚生労働本省試験研究所施設費	348,538	8,737	△339,801
	厚生労働本省試験研究所施設整備に必要な経費	348,538	8,737	△339,801
	国立医薬品食品衛生研究所施設整備費	348,538	8,737	△339,801
(項)	厚生労働本省試験研究所試験研究費	1,029,006	1,010,663	△18,343
	国立医薬品食品衛生研究所の試験研究に必要な経費	1,029,006	1,010,663	△18,343
	国立医薬品食品衛生研究所運営経費	58,721	58,717	△4
	基盤的研究費	196,241	195,460	△781
	特別研究費	6,072	6,072	0
	安全性生物試験研究センター運営費	48,267	48,267	0
	施設管理事務経費	24,512	24,512	0
	受託研究費	104,212	104,500	288
	乱用薬物基盤研究費	14,455	0	△14,455
	総合化学物質安全性研究費	82,414	79,420	△2,994
	共同利用型高額研究機器整備費	156,593	156,593	0
	研究情報基盤整備費	32,601	32,429	△172
	化学物質による緊急の危害対策を支援する知識情報基盤事業費	9,294	9,294	0
	競争的研究事務経費	57,198	57,494	296
	食品の安全性に関する情報の科学的・体系的収集、解析、評価及び提供に係る研究事業費	30,829	30,824	△5
	医薬品の安全性に関する情報の科学的・体系的収集、解析、評価及び提供に係る研究事業費	28,603	28,410	△193
	健康安全確保のための研究費	178,994	178,671	△323
(項)	血清等製造及検定費	16,505	13,310	△3,195
	医薬品等の国家検定及び検査等に必要な経費	16,505	13,310	△3,195
	一般事務経費	5,163	1,968	△3,195
	事業費	11,342	11,342	0
(移替予算)				
(組織)	厚生労働本省試験研究機関	77,467	65,811	△11,656
(項)	地球環境保全等試験研究費	54,600	51,876	△2,724
(項)	原子力試験研究費	22,867	13,935	△8,932

\*予算額については両年度とも当初予算額

## 薬 品 部

## 前部長事務取扱 川 西 徹

## 概 要

平成23年3月24日に第16改正日本薬局方が告示された。この度の改正の重要ポイントとしては製剤総則の改正、および水各条の改正が挙げられる。製剤総則の改正は半世紀ぶりともいえる全面改正であり、医療現場で汎用されている製剤を網羅するとともに、投与経路および適用部位別に分類するという国際的な動向を先導する内容となっている。この改正は元部長の青柳伸男博士によって開始され、当部の多くの部員の参画によってなされたものである。また水各条の改正は、製薬用水の現状および国際的な状況に対応した改正であって、医薬品品質管理に大きなインパクトを与えるものであるが、この改正は元部長の小嶋茂雄博士がとりまとめとなってなされたものである。その他、国際間のGMP査察の相互認証において事実上の条件にもなっているPIC/S（医薬品査察協定および医薬品査察協同スキーム）加盟にむけた準備、あるいはそれにも関連した日本国内の品質システムの確立、後発医薬品の品質確保のための試験研究等、当部が関与している医薬品行政上の課題は多い。当所にとって、先端的医薬の医療への応用のためのレギュラトリーサイエンス研究といった華々しい課題への対応も重要であるものの、当部が担っている医薬品品質保証に関わる試験研究業務は、地味であるものの国民の健康維持、増進に必須なものである。その意味で、現在のみならず将来にわたって当部の果たす役割は極めて重要と考えている。

第3室の檜山行雄室長が平成23年3月31日付けで定年退職された。当所薬品部において医薬品の品質確保に関する職務に精励され、特に医薬品製剤GMP、医薬品GMP査察マニュアル等の策定、治験薬GMP改正、医薬品品質システム関連ガイダンスの国際調和等の国際的活動など厚生労働行政に貢献されるとともに、所の発展に尽くされてきたことに感謝の意を表するものである。檜山室長の後任には4月1日付けで香取典子主任研究官が昇任した。

平成22年9月3日をもって太田 鋼氏が派遣職員の任期を終了した。平成22年10月4日付けで宮辻 恵氏が派遣職員として採用された。平成22年6月30日付けで齋藤栄子氏が派遣職員の任期を終了した。平成22年7月1日付けで水端美保氏が派遣職員として採用され平成22年3月31日付けで任期を終了した。平成22年12月31日付けで石倉恵子氏が非常勤職員の任期を終了した。平成22年11月1日付けで大島裕希氏が非常勤職員として採用され

た。

短期の海外出張については次の通りである：四方田千佳子室長は、FIP（世界薬学連合）のBCS専門委員会の会議に出席のためドイツに出張した（平成22年4月）；檜山行雄室長はICH教育研修会およびICH専門家会議に出席するためエストニアへ出張した（平成22年5-6月）；川西 徹部長、四方田千佳子室長はICH専門家会議出席のためエストニアに出張した（平成22年6月）；川西 徹部長、加藤くみ子室長、柴田寛子主任研究官はEMA主催ナノメディシンに関する第1回国際ワークショップでの講演のため英国に出張した（平成22年9月）；坂本知昭主任研究官は赤外ミリ波テラヘルツ波国際会議で研究発表のためイタリアへ出張した（平成22年9月）；檜山行雄室長はICH教育研修会参加のため米国へ、またEDQM（欧州医薬品品質理事会）シンポジウムにおいて講演を行うためチェコへ出張した（平成22年10月）；川西 徹部長はEDQMシンポジウム、WHO医薬品品質管理専門家会議に出席するためそれぞれチェコ、スイスへ出張した（平成22年10月）；小出達夫主任研究官は第37回米国化学分析及び分光学会で研究発表のため米国へ出張した（平成22年10月）；坂本知昭主任研究官は共同研究のため英国に出張した（平成22年10月）；檜山行雄室長はEMAにおいて調査研究を行うため英国に出張した（平成22年11月）；四方田千佳子室長はPSWC2010（世界薬学会議-米国薬剤学会年会）で溶出試験のワークショップ共催、阿曾幸男室長、柴田寛子主任研究官、宮崎玉樹主任研究官、小出達夫主任研究官は同じくPSWC2010で研究発表のため米国に出張した（平成22年11月）；香取典子主任研究官はバイオアナリス規制に関するワークショップ第1回アジア大会で講演のため中国に出張した（平成23年1月）；四方田千佳子室長はEDQMでの打ち合わせのためにフランスへ、また生物学的同等性試験のワークショップに参加のためスペインに出張した（平成23年2月）；坂本知昭主任研究官は共同研究のため英国に出張した（平成23年3月）。

## 業務成績

## 1. 一斉取締試験

ジクロフェナクナトリウムテープ24品目、ジクロフェナクナトリウム貼付剤2品目、メフェナム酸カプセル6品目、メフェナム酸錠1品目、メフェナム酸散1品目、メフェナム酸細粒1品目、メフェナム酸シロップ2品目、メキタジン細粒3品目、ニセルゴリン内用剤10品目。

## 2. 後発医薬品品質情報に基づく検討

ジェネリック医薬品品質情報検討会において、学会・論文発表、医薬品医療機器総合機構のおくすり相談窓口

の相談事例などから、ジェネリック医薬品の品質に関する情報を収集して精査し、品質に関する懸念は無いと思われるものの、品質に対する信頼を確保するために経口固形製剤の溶出試験、注射剤の純度試験等を検討課題として取り上げた。検討課題となった製剤の試験法を検討し、市場流通製剤について、地方衛生研究所10機関と共にそれぞれの試験を実施した。得られた試験結果では、軽微な問題は認められたものの、ジェネリック医薬品の有効性安全性に影響するような品質上の問題は無いことが確認され、ジェネリック医薬品品質情報検討会に報告した。

### 3. 薬事法に基づく登録試験検査機関の外部精度管理

薬事法施行規則に規定する厚生労働大臣の登録を受けた試験検査機関のうち、70機関につき、外部精度管理としてISO17025に準拠した医薬品分析の技能試験を実施した。

### 4. 国立保健医療科学院特別課程薬事衛生管理コース(GMP研修コース)への協力

檜山室長、坂本主任研究官及び小出主任研究官は、国立保健医療科学院からの委託を受け、当該コースの副主任として、医薬品等製造所のGMP/QMS査察に当たっている薬事監視員の研修のためのコースの設計ならびに実際の運営に当たった(平成22年5月17日～6月18日)。また四方田室長、阿曾室長、檜山室長、香取主任研究官、坂本主任研究官、小出主任研究官は上記コース中の講義の講師を務めた。

### 5. 国際協力

国際厚生事業団(JICWELS)の第26回アジア諸国薬事行政官研修および第21回必須医薬品製造管理研修(平成22年11月)に協力して、アジア諸国の薬事行政官ならびに医薬品GMP査察官に対する研修を行った。

### 6. その他

薬事・食品衛生審議会の医薬品の承認審査ならびに再評価における審議(医薬食品局審査管理課、医薬品医療機器総合機構)、日本薬局方、日本薬局方外医薬品規格、後発医薬品等の同等性試験ガイドライン作成作業、溶出試験規格作成、医薬品添加物規格および殺虫剤指針の改正作業(医薬食品局審査管理課)、GMP専門分野別研修(医薬食品局監視指導・麻薬対策課)ならびに日本工業規格(JIS)の改正作業(経済産業省)などに協力した。

産官学の方が参加し、品質保証のあり方について討論する医薬品品質フォーラムに関しては、第10回シンポジウム「生物学的同等性試験ガイドラインの改訂に向けてー医薬品品質フォーラム溶出試験WGでの議論からー」(平成22年12月)、および第11回シンポジウム「改正薬事法施行5年を迎えてー製造販売業者の役割ー」(平成

23年2月)を事務局として主催した。

## 研究業績

### 1. 医薬品の分析法に関する研究

稀少疾病(内臓型リーシュマニア症)用の未承認医薬品であるインパミド(ミルテフォシン製剤)について、研究班で患者に投与した際の血中濃度モニタリングを意識した超高速液体クロマトグラフィー/質量分析法(UHPLC/MS)による微量分析手法を開発した(厚生労働科学研究費補助金/創薬基盤推進研究事業)。

近赤外(NIR)イメージング技術を補完する技術として、飛行時間型二次イオン質量分析法(TOF-SIMS)の検討を行った結果、TOF-SIMSを用いることによりNIRイメージング技術では解析できないマグネシウムなど無機物と有機化合物の同時分析が可能であることを明らかとした。また、NIRイメージング技術と併用することで信頼性の高い解析ができることを示した。また、ジエステルからモノカルボン酸へのケン化加水分解反応工程についてUHPLC/MSを用いたリアルタイム分析の導入適用性を検討し、反応温度及び添加塩基量を重要工程パラメータとして、条件を変えたときの反応工程の変化について適切に検出できることを示した。さらに、テラヘルツ分光法及びそのイメージング技術の製造工程解析ツールとしての導入研究では、コーティング工程中に経時的採取した錠剤の表面反射強度及びコーティング厚みの分布を測定し、テラヘルツイメージとデータの特性に関する解析を行った(厚生労働科学研究費補助金/政策創薬総合研究事業)。

遠赤外/テラヘルツ分光測定時の前処理工程における結晶構造への影響を除くため、拡散透過反射測定用治具を開発し、湿式造粒物の乾燥工程における内部構成成分の相互作用に関する経時変化についてテラヘルツ吸収を用いて検出するための条件検討を行った。

ナノ粒子製剤の分離・分析手法について研究を行った。モノリス型カラムを用いたクロマトグラフィー法により、シリカナノ粒子を試料としそのサイズによる分離を達成することができた。また、分離メカニズムの解析を行った(科学研究費補助金(文部科学省))。

### 2. 日本薬局方の規格及び試験方法に関する研究

製法を違えたモデル製剤から得られた振動分光学的特徴を解析することにより、観察された結合音領域のNIR吸収の違いについて、主薬成分がもつ第三アミドが大きく寄与していることを見出した。また同様の分子骨格をもつ類似化合物を用いて結合音領域の違いを比較したところ、第三アミドの周辺の官能基により結合音領域の波形の変化の違いが出ることを明らかとした。

薬局方化学薬品、生物薬品、生薬等の一般試験法、医

薬品添加物各条，一般名称等の国際調和に向けた試験研究を実施した。医薬品添加剤関係では，異なる複数の起原を有する添加剤の各条の調和を行う上での問題点の整理およびその克服にむけた考察を行った。また理化学試験法関係では，色の試験法に関して，他薬局方との色の比較液の詳細な比較，色の機器測定における通常の分光光度計と色差計での測定結果の比較を試みた（厚生労働科学研究費補助金/医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）。

### 3. 医薬品の有効性，安全性に関する薬剤学的研究

生体内でリポソームと相互作用する分子の探索を試み，ヒト血清から延べ134個のタンパクを同定した。さらに，生体分子がどのようにリポソームと相互作用するのか評価するために，表面プラズモン共鳴を用いて *in vitro* リポソーム-生体分子相互作用解析方法の構築を試みた（厚生労働科学研究費補助金/政策創薬総合研究事業）。

各種機能性製剤の放出挙動に関しては，パドル法やバスケット法を用いるほか，フロースルーセル法を生分解性高分子からなる埋め込み剤やリポソーム，坐薬の放出試験に利用している例がみられるが，我が国では，試験法としての実績が少ないため，フロースルーセル法の種々の製剤への適用の試みを開始した（厚生労働科学研究費補助金/政策創薬総合研究事業）。

生物学的同等性試験における溶出試験では，難溶性薬物において，ポリソルベート80のみの添加を認めてきたが，一定条件下ではその他の界面活性剤の添加が容認されることとなった。そこで，難溶性薬物としてソファルコン錠を取り上げ，界面活性剤の種類と濃度が溶出性に及ぼす影響を再検討した（厚生労働科学研究費補助金/医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）。

脂質分散系製剤に関する検討として，市販ドキシルビシン封入リポソーム製剤であるドキシルに関するジェネリック医薬品開発のためのガイダンス案をFDAのリポソーム製剤に対するガイダンス案と比較しながらその背景を詳細に検討し，今後の検討の方向性を模索した。さらに，シクロスポリンのマイクロエマルジョン経口製剤について，先発品と後発品とで各種溶液中（溶出試験溶液や人工腸液）における粒子径などの物理化学的性質を評価し，ラット経口投与後の体内動態との関連性を検討した。製剤間で物理化学的特性にはかなりの差が認められたものの，AUCやCmaxなどに有意な差は認められず，体内動態が大きく異なる可能性は低いことが示唆された（厚生労働科学研究費補助金/医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）。

ポリエチレングリコール（PEG）修飾リポソームの血

中動態や体内分布に影響する表面物性として，表面電位測定によるリポソーム表面固定水和層の厚さの評価を行った。市販ドキシルビシン封入リポソーム製剤と同等の脂質組成を有し，PEG脂質としてはリン脂質誘導体あるいはジアシルグリセロール誘導体を用いたリポソームを調製して表面ゼータ電位を測定し，拡散電気二重層の厚さと電解質濃度との関係を表すグイ-チャップマンの理論を適用してPEG鎖による表面固定水和層の厚さを求めたところ，表面PEG脂質濃度に依存した固定水和層の厚さの増大が確認され，ゼータ電位測定の有用性が示された（厚生労働科学研究費補助金/医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）。

経皮吸収製剤等の放出試験法の設定のため，ツロブテロール製剤とジクロフェナク製剤について市販製剤の規格試験法を実施し，試験法の採用状況や，試験法記載における問題点などを検討するとともに，既に一般試験法が設定されているUSPやEPを参考に，貼付剤やテープ剤の放出試験法案を作成した（厚生労働科学研究費補助金/医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）。

生物学的同等性試験ガイドラインの溶出試験において，マウント形成が認められる場合には，従来のパドル法の代わりに回転バスケット法を適用することが認められたため，パーティクルイメージベロシメトリ技術を利用した低レーザー反射式流体解析装置を使用し，回転バスケット法における試験液の動きと速さの測定を試みた（厚生労働科学研究費補助金/医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）。

喘息治療薬に用いられる吸入ステロイド製剤等は，極めて溶解性が低く，溶出過程が薬効に影響を与える可能性が考えられる。吸入剤の溶出性を適切に評価するには，肺サーファクタント（SF）を含む系での検討が必要であるため，肺胞表面を摸した *in vitro* 評価系の構築を試み，擬似肺液を用いた溶出性と比較検討した。

リポソーム懸濁液の冷却による内包水の漏出と凍結挙動について，均一氷晶核形成を指標とした評価法を開発し，外部溶液の凍結濃縮による浸透圧変化を考慮した添加剤濃度の最適化が凍結保存による製剤機能の確保に有効なことを明らかにした。

### 4. 薬剤反応性遺伝子の多型解析に関する研究

パクリタキセル投与患者について，抗がん剤などの様々な薬物と結合し，その体内動態ならびに薬効に影響を与えることが示唆されているAGP（ $\alpha$ -1-acid glycoprotein）をコードする遺伝子 *ORM1* および *ORM2* の多型解析を行い，同時に血漿中AGPレベルとパクリタキセルの有効性，副作用および臨床検査値等との関連性を調べた。その結果，*ORM1* のSNPのうち，パクリタ

キセルの代謝物と有意に関連するものがあつた。この遺伝子変異は血中 AGP を上昇させる傾向があり、AGP がパクリタキセルの代謝に何らかの影響を与えていることが示唆された(科学研究費補助金(文部科学省))。

#### 5. 医薬品の物性と安定性に関する研究

糖を添加した凍結乾燥製剤中のインスリンの脱アミド反応はガラス転移温度が高く運動性の低い糖を添加した製剤ほど遅く、インスリンの安定性がガラス転移温度を指標とする運動性と関連することが示唆された。(厚生労働科学研究費補助金/医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)。

非晶質ニフェジピンやフェノバルビタールの結晶化挙動の観察より、ポリビニルピロリドンを添加することにより固体内部の結晶化が抑制され、ヒドロキシプロピルメチルセルロースの添加により固体表面の結晶化が抑制された。ポリエチレングリコールは結晶化を促進した。結晶化メカニズムに及ぼす影響が高分子添加剤によって差があることが示された。(厚生労働科学研究費補助金/政策創薬総合研究事業)。

分解速度の異なる炭酸エステル結合とエステル結合を介して架橋したデキストランマイクロスフェアは炭酸エステル結合とエステル結合の比率を調整することにより、 $\beta$ -ガラクトシダーゼや BSA など分子サイズの異なるタンパク質の放出制御が可能であることを明らかにした。(原子力試験研究費)。

#### 6. 高機能性製剤の品質特性および体内動態評価に関する研究

ナノ粒子 DDS 製剤の品質確保のために必須な表面電荷等の評価手法に関して研究を行い、ゼータ電位測定が、ナノ DDS 製剤の表面荷電状態、分散安定性の指標となるほか、リポソーム製剤の PEG 鎖により形成される表面固定水層の厚さを測定するために有用であるとの知見を得た。

ナノ粒子 DDS 製剤の細胞標的性を評価するために、共焦点顕微鏡により細胞内への取り込み、細胞内動態を評価する新たな実験系を構築し、粒子サイズと細胞内への取り込み量に関する知見を得た。また、引き続き *in vivo* イメージング装置を用いて、疾患モデルマウスにおける薬物動態可視化のための実験系構築のための研究を行った(厚生労働科学研究費補助金/政策創薬総合研究事業)。

抗体利用医薬品の物性と体内動態に関する研究を開始し、抗体のアイソフォームを分離する手法に関し知見を得た。また、抗体利用医薬品の体内動態をイメージングによって捕捉する方法を検討した。また抗体医薬品および抗体利用医薬品の体内動態、および生体内分子との相互作用をイメージングによって解析する方法の開発をお

こなつた(保健医療分野における基礎研究推進事業)。

#### 7. 医薬品の品質保証に関する研究

ICHQ10モデルの導入に関して、国際的な共通課題と国内導入の課題を検討した。前年度までに Q10 の国内導入の課題を抽出するために Q10 ガイドラインと GMP 省令および医薬品に係わる GQP 省令の関連を調査した。Q10 では、任意とされるマネジメントレビュー、委受託の契約などが、日本国内では法的な要件であることが認識されていた。厚生労働省の行ったパブリックコメントへの意見、他の広報活動において出された意見には、『Q10 における上級経営陣の役割が GQP 省令の要件との関連が理解しにくい』というものが見られた。経営陣の責任に対する理解を深め、Q10 の国内導入を進めるためには品質関連担当者だけではなく企業の経営層へ対する広報活動も必要であるとの認識のもとに『製薬企業経営陣への品質システムに関する調査』を行った。この調査結果及び日本開催 ICH 教育研修会からのフィードバックを基に、さらなる日本国内向けの広報活動が必要と結論した(厚生労働科学研究費補助金/医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)。

テオフィリンがもつキサンチン骨格では、近赤外測定では結合剤の存在下、湿式造粒条件において CH 結合音領域に波形の変化が観察されることが明らかとなったが、減衰全反射(ATR)中赤外測定法による造粒物表面から深さ数  $\mu\text{m}$  までの分光情報に基づき、テオフィリン末の表面に結合剤が分子間相互作用により付着している可能性が高いことを見出した。また同造粒物の遠赤外/テラヘルツ透過吸収より、テオフィリンに特徴的な吸収が消失し、結晶構造を構成するテオフィリン分子間の水素結合ネットワークに何らかの影響が及ぼされたことが示唆された(厚生労働科学研究費補助金/医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)。

製剤開発における処方成分量のフレキシビリティの可能性について、浸透圧ポンプを利用した特殊な錠剤をモデルとして取り上げ、幅記載の方法について取り上げ方と記載方法を検討した(厚生労働科学研究費補助金/医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)。

GMP 査察手法の国際整合性確保に関する研究においては、国内査察当局の品質システムおよび査察実施実態の調査を行い、国際基準の査察官の要件をまとめ、欧米査察担当からの聞き取り情報を参考にし、日本における査察業務調整機能の提案を行った。査察当局の実態調査結果によると、調査対象の数、種類ともに様々であり、組織・体制も異なっている。これらのことから、日本の査察システムを国際基準へレベルアップするためには、48 の調査権者の間に品質システムの共通化、GMP

ガイドラインの継続的アップデート、継続的トレーニングの立案、国際整合性に関する情報入手と調査権者への情報提供、全体会議の開催の機能をもつ、常任の連携組織が必須であると結論した。また、引き続き製法変更における生物学的同等性試験案のパブリックコメントを収集し、案を確定した。溶出試験のキャリブレーションに関する ASTM のガイドラインを詳細に検討し、FDA のガイドラインとあわせて我が国のガイドライン案を作成した（厚生労働科学研究費補助金/医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）。

医薬品の製造開発から市販後に及ぶ品質確保と改善に関する研究では、ICH の研修会からの議論を参考にし、管理戦略の事例に基づくシナリオ作成、近赤外スペクトル法の製剤工程管理への適用事例研究、及びリアルタイムリリース試験における含量均一性評価のための試料数と評価という課題に取り組んだ。（厚生労働科学研究費補助金/医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）。

#### 8. 国際動向を踏まえた医薬品の品質確保に関する研究

ICH（医薬品規制国際調和会議）の製剤開発・品質リスクマネジメント・医薬品品質システムの3ガイドラインの実施作業部会（Implementation Working Group: Q-IWG）の活動に参加し、45を超える Q&A を発行した。ICH による教育プログラムを作成し、欧州・米国・日本で研修会を主催した（厚生労働科学研究費補助金/医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）。

ICH（医薬品規制国際調和会議）の金属不純物ガイドラインの実施作業部会（Q3D）の活動に参加し、ガイドラインの策定を開始した（厚生労働科学研究費補助金/医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）。

日本薬局方の主な製剤試験法について、ICH-Q4B 評価後の非調和部分について再調査、整理するとともに、問題点を考察した（厚生労働科学研究費補助金/医薬品医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）。

### 生物薬品部

部 長 川 崎 ナ ナ

#### 概 要

生物薬品部は、バイオ医薬品及び生体由来高分子医薬品など生物薬品の特性と品質評価技術に関する研究、有効性に関する生物化学的研究、安全性に関する生物化学的研究を通じて、ライフイノベーションをレギュラトリ

ーサイエンスの立場から支援・推進している。平成22年度は、先端的医薬品の開発と承認審査業務の迅速化に資する研究として、抗体医薬品等バイオ医薬品の品質・有効性・安全性確保に関する研究、生体由来製品のウイルス・プリオン安全性確保に関する研究、ヒト初回投与試験に用いる治験薬の品質に関する研究、先端医療開発特区（スーパー特区）研究班による薬事上の課題抽出及び対応に向けた調査研究を実施した。その他生物薬品の品質確保に関する研究業務として、ヘパリン製剤の規格及び試験法に関する研究、並びにバイオ後続品の品目別ガイドライン作成に関する研究を行った。また、日局改正、薬事・食品衛生審議会、及び独立行政法人医薬品医療機器総合機構（PMDA）における審査業務等に協力した。さらに、平成23年4月1日より、研究業務の活性化を目的として、北海道大学大学院生命科学院に連携分野レギュラトリーサイエンス講座を開設し、川崎ナナ部長が連携講座客員教授に、また、石井明子室長が同客員准教授に就任した。

人事面では、平成22年7月1日付けで橋井則貴主任研究官が第一室長に就任した。PMDA との人事交流の一環として、平成22年9月1日付けで小林 哲主任研究官がPMDA 安全第一部に異動になり、同日、栗林亮佑氏がPMDA 新薬審査第二部より研究員に着任した。平成23年4月1日付けで山口照英博士が再任用研究員として採用された。平成22年5月31日付けで事務補助員村岡ひとみ氏が退職し、平成22年7月1日付けで渡辺 猛氏がスーパー特区特任研究員として、また、高久明美氏が事務補助員として採用された。伊藤さつき博士が平成22年11月1日付けで短時間勤務非常勤職員として採用され、平成23年3月31日付けで退職した。

海外出張は以下のとおりであった。川崎部長は、米国薬局方主催名称に関するワークショップ（米国ロックビル：平成22年7月27、28日）、並びに第50回及び第51回医薬品国際一般名称専門家会議（スイスジュネーブ：平成22年5月19日、平成22年11月18、19日）に出席した。橋井室長、石井室長は、ヘパリン製剤の品質評価に関するワークショップ（英国ロンドン：平成22年7月8、9日）に出席した。橋井室長、原園 景主任研究官は、2010環太平洋国際化学会議（米国ホノルル：平成22年12月15～20日）に出席した。新見室長は、米国薬局方主催不純物、粗悪品、国際的な医薬品の品質における USP の役割の変化に関するワークショップ（米国ニューオーリンズ：平成21年11月13、14日）に出席した。

#### 業務成績

1. 日局各条ヘパリンナトリウム等に含まれる不純物の規格及び試験法原案の作成及びその検証に関する研究

日局各条へパリンナトリウム及びパリンカルシウムの力価試験案を策定した。また、純度試験違反品として自主回収された製品に混入している不純物の同定を行った。(医薬食品局審査管理課)

## 2. バイオ後続品の品質・有効性・安全性に関する品目別ガイドライン作成に関する研究

バイオ後続品に関する各国ガイドライン及び日欧で承認されたエポエチン後続品に関する調査研究、並びにエポエチン及び抗体医薬品を用いた、同等性/同質性評価としての比較試験に関する研究を行った。(医薬食品局審査管理課)

## 3. 国立保健科学院特別課程薬事衛生管理コースへの協力

川崎部長は、上記コースの講義の講師として「バイオ医薬品の品質保証」について講義した。また鳥井賢治特任研究員は、「医療機器総論」について講義を行った。

## 4. 国際協力

石井室長は、国際厚生事業団(JICWELS)の平成22年度薬事行政官研修に協力して、アジア諸国の薬事行政官に対する研修を行った。川崎部長はWHOの医薬品国際一般名称事業に協力した。

## 5. その他

薬事・食品衛生審議会の各種部会、並びにPMDAにおける新有効成分含有医薬品の承認審査及び一般の名称作成に係る専門協議に参画した。また、日本薬局方の改正作業に協力した。

バイオリジクスの研究開発、製造に係る諸問題、及び製品の品質・有効性・安全性評価等に関する研究発表並びに情報交換の場として設置されたバイオリジクスフォーラムの第8回学術集會を「わが国のバイオリジクスに未来はあるか? 発展的未来を指向して」をテーマに開催した(平成23年2月)。

## 研究業績

### 1. 生物薬品の特性と品質評価技術に関する研究

#### 1) 抗体医薬品の製造方法、品質特性解析法及び試験法の開発に関する研究(政策創薬総合研究事業)

- ① 抗体医薬品の標準的糖鎖試験法として、2-アミノベンザミド誘導体化及び蛍光検出親水性相互作用クロマトグラフィーが有用であることを確認した。
- ② 抗体医薬品とFc受容体の結合親和性試験法として、表面プラズモン共鳴(SPR)法の有用性を評価し、標準的試験法とするための課題を明らかにした。
- ③ 光散乱法は、抗体医薬品における凝集体の工程内管理試験、規格及び試験法として有用であることを示した。

#### 2) 細胞応答を指標とした医薬品の特性解析及び活性評価法に関する研究(政策創薬総合研究事業)

ヒト肝臓癌由来HuH-7細胞の増殖阻害を指標とした生物活性評価法を確立した。また、ヒト乳癌由来MDA-MB-231細胞におけるMET遺伝子の発現を指標とした生物活性の評価法として、リアルタイムRT-PCR法の有用性を明らかにした。

#### 3) 再生医療実用化に向けた細胞組織加工医薬品の安全性・品質等の確保に関する基盤技術開発研究(厚生労働科学研究費補助金)

- ① 液体クロマトグラフィー/質量分析(LC/MS)により得られたヒト骨髄由来間葉系幹細胞(MSC)及びその加工細胞の糖鎖プロファイルについて主成分分析(PCA)を行い、本手法がMSCの分化程度を評価する方法として利用可能であることがわかった。
- ② 血管内皮前駆細胞の特性指標の探索を行い、tight junction構成タンパク質であるoccludinが管腔形成に関わる機能的特性指標であることが明らかになった。

#### 4) 医薬品規制の国際調和の推進による医薬品審査の迅速化のための基盤的研究(厚生労働科学研究費補助金)

- ① 血清及び無血清培地で培養したDG44細胞由来組換えヒトFSH、並びに市販のFSH製剤の糖鎖プロファイルと比活性を比較し、糖鎖プロファイルは血清の有無よりも、製造細胞の違いによって大きく影響されること、比活性は無血清化で高くなることが確認された。
- ② Fc受容体発現細胞株を用いたCell-based Binding AssayおよびBridging Assayを構築し、これらのアッセイ系が抗体医薬品の品質特性解析法として適用可能であることを示した。
- ③ 大腸菌及びCHO細胞で生産した遺伝子組換え抗ヒトVEGF抗体製剤の生物活性を、VEGFによるHUVECの増殖促進の阻害アッセイ及びSPR法により測定した。その結果、VEGFによるHUVECの増殖促進の阻害アッセイは抗VEGF抗体製剤の活性比較に有用であるが、本研究で用いた測定条件では、SPR法はVEGFによるHUVECの増殖促進の阻害アッセイに代替できないことを明らかにした。

#### 5) 医薬品の製造・品質管理の高度化と国際化に対応した日本薬局方の改正のための研究(厚生労働科学研究費補助金)

- ① 糖タンパク質医薬品の糖鎖試験法策定の一環として、モデル糖タンパク質のLC/MSを実施し、糖鎖

の LC/MS の要件を明らかにした。

- ② ヘパリンに関する、米国薬局方や欧州薬局方の改正動向等を調査し、日局医薬品各条多糖類の規格及び試験法の見直し及び新規収載における課題を抽出した。
- 6) ヘパリン関連医薬品の活性試験及び純度試験等に関する研究 (医薬品審査等業務庁費)
  - ① 日局各条ヘパリンナトリウムの純度試験-核酸及びタンパク質、確認試験-抗 Xa/抗 IIa 活性比、ならびに、力価試験-抗 IIa 活性試験及び抗 Xa 活性試験策定における課題を抽出した。
  - ② 国内ヘパリンナトリウム製造販売業者により自主回収されたヘパリンナトリウム原薬に含まれる未知物質について構造解析を行い、ガラクトサミン含有酸性多糖であることを明らかにした。
- 7) タンパク質性医薬品製剤中成分の簡便迅速な確認法に関する研究
 

バイオ医薬品中の有効成分や添加物を質量分析によって確認するために考慮すべき事項を検討した。
- 8) 治験対象医薬品ヒト初回投与試験の品質に関する研究 (厚生労働科学研究費補助金)
 

治験対象医薬品ヒト初回投与試験の安全性に関するガイダンス案の作成において、品質管理における要件を明らかにした。
- 9) バイオ後続品の品質評価等に関する研究 (医薬品審査等業務庁費)
  - ① LC/MS によるエリスロポエチン製剤の糖鎖プロファイリング及び得られた糖鎖プロファイルの PCA を行い、本分析法により先行品と後続品の糖鎖プロファイルの類似性評価が可能であることを示した。
  - ② 抗 CD20 抗体 2 製品について生物活性の比較試験を行い、抗体医薬品の同等性/同質性評価においては、Fc 受容体結合性試験やエフェクター活性測定試験が有用であることを示した。
  - ③ エポエチン製剤のバイオ後続品と先発品の同等性/同質性について加速条件における凝集体形成を指標に光散乱法により評価したが、全てのエポエチン製剤において凝集体は形成されなかった。
- 10) MSC の糖鎖を指標とした同等性/同質性評価法の開発 (科学研究費補助金 (文部科学省))
 

LC/MS により、MSC の骨、軟骨及び神経様分化誘導初期の細胞の糖鎖プロファイリングを行い、糖鎖プロファイルが分化の方向により異なる可能性があることを明らかにした。
2. 生物薬品の有効性に関する生物化学的研究
  - 1) Fc 受容体との相互作用に着目した TNF 阻害抗体

医薬の生物学的性質に関する研究 (科学研究費補助金 (文部科学省))

抗 TNF $\alpha$  抗体医薬品と可溶性 TNF $\alpha$  との複合体形成に着目し、抗原-抗体複合体形成能の差異が Fc $\gamma$  受容体活性化に及ぼす影響について明らかにした。

- 2) Fc ドメイン含有タンパク質医薬品の生体内分布・分解と半減期に関する研究 (科学研究費補助金 (文部科学省))
  - ① Fc 融合タンパク質 (エタネルセプト) が抗体 (インフリキシマブ, アダリムマブ) よりもマウス FcRn に対する親和性が低いことを明らかにした。
  - ② 蛍光共鳴エネルギー遷移 (FRET) 型の標識体を作製し、抗体とその分解物を区別して検出可能であることを示した。
- 3) ホルモン等の作用発現に関与する諸因子に関する研究
 

P16INK4A は、培養肝細胞の増殖促進因子である アネキシン III により発現が低下する細胞周期抑制因子である。P16INK4A 発現のノックダウンにより培養肝細胞の増殖が促進されたことから、アネキシン III による増殖促進には P16INK4A の発現低下が関与していることが示された。またヒト肝癌由来 HuH-7 細胞において EGF 刺激による AKT 及び ERK のリン酸化は、アネキシン III のノックダウンで大きく変化しないことを明らかにした。
- 4) グライコミクス技術による腫瘍関連糖タンパク質の探索と腫瘍マーカーへの応用研究 (科学研究費補助金 (文部科学省))
 

抗悪性腫瘍薬の分子マーカー候補として、抗シアリルルイス x 抗体に反応性を示す糖タンパク質を見出した。また、シアリルルイス x 生成に係わるフコース転移酵素遺伝子発現を RNA 干渉法によりノックダウンすることにより、がん細胞の増殖能が低下することを見出した。
- 5) タンパク質の糖鎖修飾による細胞機能制御に関する研究
 

O-グルコース糖鎖修飾酵素のノックダウンにより腫瘍細胞株の細胞増殖が抑制されることを明らかにした。
3. 生物薬品の安全性に関する生物化学的研究
  - 1) 輸血用血液製剤に対する副作用を生じない病原体不活化技術の開発に関する研究 (厚生労働科学研究費補助金)
    - ① 光増感剤及び光照射が血漿中のタンパク質に及ぼす影響を明らかにするために、モデルペプチドを用いて検討したところ、主な影響はカルボニルが形成されることであることを確認した。

- ② ヒト血漿を試料としてリボフラビン-UV照射による病原体不活化処理を行い、血漿中IgGのFcγ受容体結合能が不活化処理により変化する可能性を明らかにした。
- ③ ウイルス不活化能の評価法を開発するため、最も不活化に関与すると考えられるレトロウイルスのエンベロープタンパク質に変異を導入した（これにより、不活化に重要な構造が明らかになる）。
- 2) 遺伝子組換え医薬品等のプリオン安全性確保のための検出法及びプリオン除去工程評価に関する研究（厚生労働科学研究費補助金）  
異常型プリオンの特異的検出法を開発する一環として、電気泳動ゲルから糖タンパク質を回収する方法を最適化した。
- 3) タンパク質医薬品の免疫原性に関する研究  
抗体産生の誘導に関与する可能性のある因子として、タンパク質医薬品原薬に関連する因子及び標的疾患と患者の特性に関連する因子を明らかにし、各因子で免疫原性に及ぼす影響は異なることがわかった。
- 4) バイオ医薬品製造過程におけるウイルス除去・不活化法の改善及びウイルス安全性試験法の開発  
ウイルス除去・不活化法の改善及びウイルス安全性試験法を検討するためのモデルウイルスとして、Sindbis virus, FCVなどの培養系を構築した。
- 5) レトロウイルスの細胞への感染侵入メカニズムの解析  
レトロウイルスの細胞への侵入阻害剤に対して耐性を獲得したウイルスの分離に成功した。そのエンベロープ領域に従来まで報告のない変異を検出した。
- 6) バイオ治験薬の品質安全性確保に関する研究  
知識管理、科学的理解、ならびにリスクマネジメントをベースとする近年の医薬品の製法開発・品質管理の潮流を踏まえて、バイオ治験薬の品質・安全性確保に求められる要件を明らかにした。
4. 先端技術を利用した生物薬品に関する基礎的研究
- 1) トランスジェニック植物を利用して製造されたタンパク質医薬品に関する研究  
トランスジェニック植物を用いたタンパク質医薬品発現系のモデルとして、ヒメツリガネゴケおよびタバコ培養細胞を用いた発現系を構築した。
- 2) 高機能性製剤の構成要素としてのタンパク質医薬品の評価に関する研究  
タンパク質のリシン残基を修飾するモデル化合物として Alexa488を用い、化合物結合が抗体のFc受容体結合性に及ぼす影響を明らかにした。
- 3) スーパー特区における薬事上の課題抽出及び対応に向けた調査研究（科学技術振興調製費）

スーパー特区採択課題者からの薬事相談、並びに分野別意見交換会を通じて、革新的医薬品・医療機器の治験・承認申請における課題を抽出した。

- 4) 抗体医薬品等のバイオ医薬品の合理的開発のための医薬品開発支援技術の確立を目指した研究（保険医療分野における基礎研究推進事業）
- ① 修飾抗体の高次構造解析技術の開発の一環として、システイン残基を修飾部位としたモデル修飾抗体を調製し、LC/MSを用いたペプチドマッピングにより、修飾されたシステイン残基の位置を確認した。
- ② 抗体医薬品のADCC活性測定・評価法の開発のため、末梢血単核球細胞に代わるモデルエフェクター細胞株を樹立した。
- ③ 抗体医薬品の動態評価法の開発のため、IgGの血中半減期と体内動態制御に関与するFcRnの安定発現細胞株を樹立した。

## 生薬部

部長 合田幸広

### 概要

当部では生薬、生薬・漢方製剤の品質確保と有効性に関する試験・研究、生薬資源に関する研究、天然有機化合物の構造と生物活性に関する研究並びに、麻薬及び向精神薬等の乱用薬物、無承認無許可医薬品等に関する試験・研究を行っている。また、上記の業務関連物質について、日本薬局方をはじめとする公定医薬品規格の策定に参画するとともに、食薬区分に関する調査・研究並びに、天然薬物の規格に関する諸外国との国際調和に関する研究を行っている。

平成22年度で最も特筆すべきことは、生薬及び動植物成分に関するリスク分類の見直しに関する指定研究が11月よりスタートしたこと及び、日本薬局方外生薬規格（局外生規）に関する見直し作業が12月よりスタートしたことである。前者は、医薬食品局安全対策課の依頼によるもの、後者は同局審査管理課の依頼によるものである。前者については、事前調査を行った後、年度内に密度の濃い班会議を4回開催して、最終的に量的な判断基準も組み込んだ再区分案を「一般用医薬品のリスク区分の検証に関するワーキンググループ」に提出した。後者は、業界団体との会合を持ちながら平成23年度よりスタートする局外生規検討会のための基礎資料を作成した。

平成13年より、生薬部で検討、対応してきた一般用漢方処方承認基準の改正に関しては、平成22年8月23日

の一般用医薬品部会において「一般用漢方処方に係る新規処方の追加について」が審議され、パブリックコメントを経て、平成23年4月15日に、医薬食品局審査管理課長通知「一般用漢方製剤承認基準の改正について」が発出された。新規処方の追加は、平成22年4月1日の従来処方加減方23処方に続いてのもので、「一般用漢方処方の手引き案」で収載を提案している残り30余処方の承認基準収載に向けて、平成23年度も引き続き対応して行く予定である。

日本薬局方関連では、平成23年3月24日に第16改正日本薬局方が告示されたが、局方原案審議委員会では、既に同局第一追補以降第17局を目指す審議が活発に行われている。漢方処方関係では、17局を目指す新規収載候補11処方を決定し漢方処方の局方収載原案作成に関するワーキンググループにおいて規格・標準化へむけての作業がスタートした。

第3室関連では、実態調査において新規な合成カンナビノイドとカチノン系化合物の検出が相次いでおり、継続的にこれら新規成分も含め分析用標品としての化合物の確保、分析法の確立等、積極的な対応を行っている。平成22年8月より合成カンナビノイド2化合物を含む5化合物が、さらに平成23年4月より、合成カンナビノイド5化合物カチノン系2化合物を含む9化合物が新たに指定薬物として指定されたが、これらの指定には、当部の多大な貢献がある。なお、本年度も、地方衛研担当者に対し分析・鑑定に関する研修を行うとともに、分析用標品の公立機関への配布を行っている。

生薬部では、所掌にないが、国立医薬品食品衛生研究所のミッションのひとつと考え「科学的な知見に基づく食薬区分」に関し厚生労働科学研究費補助金等で対応している。近年、特にED治療薬類似無承認無許可医薬品の摘発が増えているが、平成22年度では、メチソシルテナフィル（アイルテナフィル）が化学修飾された構造を持つ新規化合物を取り扱った。また、国民生活センターからの問題提起による電子タバコ煙中のニコチンの検出に関しては、監視指導・麻薬対策課からの依頼に迅速に対応し、分析法を開発した。

生薬の国際調和、国際交流関連では、Western Pacific Regional Forum for the Harmonization of Herbal Medicines (FHH) の日本事務局として、FHHの活動に関与するとともに、平成22年10月28-29日香港で開催された Standing Committee Meeting および同年10月30日に香港で開催された第4回 FHH International Symposium に参加した(合田)。合田は、また、同年11月17-18日に富山で開催された International Symposium on Standardization of Traditional Medicines にシンポジストとして、平成23年1月17-18日に東京で開催された Tokyo

Forum on International Standardization of Natural Medicines にシンポジストおよび座長として参加した。さらに、JICA 必須医薬品製造管理研修 GMP コース 講義、タイ国伝統医薬局日本訪問団への対応、WHO 日本伝統医学評価視察への対応等に協力した。袴塚は、平成22年5月26-28日に香港で開催された First WHO Meeting on the International Classification of Traditional Medicine 及び平成22年12月7-10日に東京で開催された Second WHO Meeting on the International Classification of Traditional Medicine に参加し、ICD-11に伝統医学を取り込むための国際分類策定作業に参画した。また、本年より、日本東洋医学サミット会議 (JLOM) の要請を受け、ISO TC249 (中国伝統医学(仮題)標準化専門委員会)における東アジア伝統医学の品質及び安全性確保に資する国際標準の作成作業に参画し、GMPの考え方を加味した生薬及び処方の国際標準案の作成に寄与するとともに、ISO TC215 (医療情報標準化専門委員会)における天然物医薬品の基原及び分類に関する概念構造の構築作業に参画し、生薬の基原及び分類に関する概念構造を整理し、国際生薬辞典作成の枠組みとなり得る国際標準案の作成に寄与した。花尻は、平成22年8月26日-9月5日にポルトガル・リスボンにある EU 機関 European Monitoring Centre for Drugs and Drug Addiction (EMCDDA) 及びドイツ・ヴィースバーデンにあるドイツ連邦警察法科学研究所を訪問し、担当官とヨーロッパ、ドイツにおける乱用薬物に関する情報収集及び意見交換を行った。また、第49回 The International Association on Forensic Toxicologists (TIAFT) に参加し研究発表を行った。さらに、同年12月12-18日にインドのあへん産地及び工場(ガジプール、ニーマッチ)並びに分析機関及び統轄機関(デリー)を訪問し、インド産生あへんに係る現況調査及び意見交換を行った。

学会関連では、当部協力研究員の糸数七重日本薬科大学講師が、当部研究員時代に行った研究「AUR (Actual Use Research): 一般用漢方製剤の有用性評価方法の確立」で平成22年度和漢医薬学会奨励賞を受賞した。また、当部客員研究員である川原信夫医薬基盤研薬用植物資源研究センター長が、主に当部職員時代に行った研究「評価化学を指向した生薬、薬用植物及びその他化学物質に関する天然物化学的研究」により平成22年度日本生薬学会学術貢献賞を受賞した。

平成22年度の人事面の異動は以下の通りである。平成22年4月1日付けで、宮坂一善研究員が関東信越厚生局麻薬取締部より当部に出向となり、平成23年3月末まで在籍した。平成22年4月1日付けで、内山奈穂子研究員及び緒方潤研究員が主任研究官に昇格した。5月より若菜大悟流動研究員の派遣所属先が日米医学医療交流財

団に変更となった。

前述したものの以外に、海外出張は以下の通りである。丸山は、平成22年9月18-20日に、中国山東省、聊城に出張し、アキョウ生産の現地調査を行った。内山は、8月29日-9月5日に前述されたTIAFTに参加し研究発表を行ったが、本発表は、若手の優秀発表として、Springer Poster Awardを受賞した。

#### 試験・製造・調査・国際協力等の業務

1. 日本薬局方外生薬規格の改訂準備作業を開始し、新規収載候補品目の仮選定及び記載内容の検討を行った。また、漢方処方エキス製剤の原料生薬について、重金属及びヒ素含量の調査を行った。
2. タクシャ、ハンゲ及びタクシャ、ハンゲを含む漢方処方製剤（柴苓湯）全43検体について重金属及びヒ素の分析試験を行い、結果を医薬食品局監視指導・麻薬対策課に報告した。
3. いわゆる健康食品のうち強壮効果を標ぼうする製品（「強壮用製品」）、瘦身効果を標ぼうする製品（「瘦身用製品」）、及び近年乱用が問題となっているいわゆる「違法ドラッグ」を対象として47都道府県の協力の下、買い上げ調査を実施し、当部で医薬品成分、指定薬物等の分析試験を行った。分析を行った製品は、強壮用製品152製品（ロット別174製品、重複9製品）、瘦身用製品66品目76製品、違法ドラッグ製品31製品である。これらのうち、強壮用10製品より分析対象物が検出されるとともに、別に4製品よりヨヒンピンを、1製品よりリドカインを検出した。また、瘦身用製品からは、分析対象物は検出されなかったが、1製品よりセンナ葉、センナ実を検出した。さらに、違法ドラッグ23製品から分析対象化合物が検出され。そのうち、20製品からH22年9月より指定薬物として規制されたJWH-250（17製品）及び（または）JWH-073（15製品）を検出した。また、さらにそのうち1製品からH19年4月より指定薬物として規制されたサルビノリンA及びH21年11月から規制されたJWH-018を検出した。以上の結果は、監視指導・麻薬対策課に報告した。
4. あへん（国産あへん10件、輸入あへん110件、計120件）中モルヒネ含量について試験を行い、結果を医薬食品局監視指導・麻薬対策課に報告した。
5. 新規鑑識用麻薬標準品として、レボメトルファン250 mgを確保し、各種定性データと共に医薬食品局監視指導・麻薬対策課に報告した。また、鑑識用標準品として94化合物を管理し、平成22年度はのべ34化合物を全国の鑑識機関に交付した。
6. 違法ドラッグの分析法等の調査に係わり、違法ドラッグの分析用標品として1-(2,5-dimethoxy-4-nitrophenyl)propan-2-amine (DON) 塩酸塩、2-(2,4,5-trichloro-3,6-dimethoxyphenyl)ethanamine (2C-C-3) 塩酸塩、1-(8-bromobenzofuro[5,6-b]furan-4-yl)propan-2-amine (Bromo-Dragonfly, BDFLY) 塩酸塩、1-(8-bromo-2,3,6,7-tetrahydrobenzofuro[5,6-b]furan-4-yl)propan-2-amine (3C-B-FLY, BFLY) 塩酸塩、1-(2-fluorophenyl)-*N*-methylpropan-2-amine (*N*-Methyl-2-FMP) 塩酸塩、(1-butyl-1*H*-indol-3-yl)(naphthalen-1-yl)methanone (JWH-073) 及び2-(2-methoxyphenyl)-1-(1-pentyl-1*H*-indol-3-yl)ethanone (JWH-250) の7化合物を大量製造・確保し、これら標品について各種定性試験 (NMR, GC-MS, LC-MS, UV, IR 測定) 及び品質試験 (HPLCによる純度測定) を行った。以上の結果は、医薬食品局監視指導・麻薬対策課に報告した。なお、指定薬物分析用標品として50化合物1植物を管理し、平成22年度はのべ31化合物を全国の分析機関に交付した。
7. 違法ドラッグの麻薬指定調査に係わり、平成22年度新規指定薬物5化合物 (DON, 2C-C-3, *N*-Methyl-2-FMP, JWH-073及びJWH-250) について標準分析法を作成した。以上の結果は、医薬食品局監視指導・麻薬対策課に報告した。また、本標準分析法は、厚生労働省より全国に通知された。(平成22年9月14日厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課長通知「指定薬物の測定結果等について」薬食監麻発第0914第5号)
8. 平成22年度現在で指定薬物に指定されている合成カンナビノイド5化合物 (カンナビシクロヘキサノール, CP-47,497, JWH-018, JWH-073及びJWH-250) について、定性・定量分析並びに各薬物の解説を記したマニュアルを作成し、医薬食品局監視指導・麻薬対策課に報告した。
9. 麻薬及び乱用薬物に関する情報収集 (医薬食品局監視指導・麻薬対策課及び地方厚生局麻薬取締部) に協力した。特に、平成22年度に指定薬物として緊急に対応すべき薬物をリスト化し、これらの薬物について有害性情報を収集整理し、医薬食品局監視指導・麻薬対策課に報告した。本報告は、平成22年6月に行われた薬事・食品衛生審議会指定薬物部会において、審議参考資料として利用された。
10. カートリッジ内容物中にニコチンを含有する24銘柄の電子たばこの吸入蒸気を分析した結果、全銘柄の電子たばこの吸入蒸気よりニコチンを検出し、結果を、監視指導・麻薬対策課に報告した。
11. 厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課の依頼により、2月25日に44都道府県56名の担当者を対象と

- して、平成22年度指定薬物分析研修会議を国立衛研で開催した。
12. 地方衛生研究所（京都，埼玉，神奈川，静岡，千葉）及び地方厚生局麻薬取締部（東海信越）から依頼があった未同定違法ドラッグ成分を含む違法ドラッグ製品の分析を行い、分析結果を各機関に報告した。
  13. 地方衛生研究所等に対し、分析用標品（フェンフルラミン、*N*-ニトロソフェンフルラミン、シプトラミン、オリスタット、シルденаフィル、バルденаフィル、タダラフィル、ホンデナフィル、キサントアントラフィル、チオキナペリフィル、ヒドロキシホモシルденаフィル、ヒドロキシホンデナフィル、アミノタダラフィル、クロロプレタダラフィル、脱*N*-ジメチルシプトラミン等）の配布（のべ133件）を行うとともに、違法ドラッグ成分、強壮成分等の分析に協力した。
  14. 専ら医薬品に関する情報収集（医薬食品局監視指導・麻薬対策課）に協力した。専ら医薬品に該当する可能性がある7種の植物原料について、有害性情報を収集整理し、医薬食品局監視指導・麻薬対策課に報告した。
  15. いわゆる健康食品から検出されたED治療薬類似化合物等の法的規制に協力した。
  16. 国際協力事業団必須医薬品製造管理研修、及びタイ伝統薬局訪問団との討議、WHO日本伝統医学評価視察等に対応した。
  17. ISO TC249（中国伝統医学（仮題）標準化専門委員会）における東アジア伝統医学の品質及び安全性確保に資する国際標準の作成作業に参画し、GMPの考え方を加味した生薬及び処方国際標準案の作成に寄与するとともに、ISO TC215（医療情報標準化専門委員会）における天然物医薬品の基原及び分類に関する概念構造の構築作業に参画した。
  18. 薬事・食品衛生審議会の部会、調査会等の委員及び独立行政法人医薬品医療機器総合機構専門委員として日本薬局方の改訂作業、動物用医薬品の承認審査、指定薬物の指定等に協力した（合田，袴塚，花尻）。また、内閣府の食品安全委員会専門委員（合田）および厚生労働省医薬食品局長等が主催する各種検討会等の委員として、審議に参画した（合田，花尻）。
  19. 厚生労働省の共同利用型大型機器の管理・運営のとりまとめを行った。

## 研究実績

1. 漢方処方の局方収載のための原案作成WG会議を実施し、第16改正日本薬局方（16局）および17局収載をめざす漢方処方について、各種試験法の検討を行う

- とともに、原案のとりまとめ、修正等を行った。
2. 平成22年5月より12月まで、防風通聖散を用いて、一般用漢方処方の使用実態調査研究AURを実施した。
  3. 生薬製剤の2類、3類分類に関する指定研究「一般用医薬品生薬製剤のリスク分類見直しに関する研究」を実施した。
  4. 定量NMR（qNMR）を利用して、日本薬局方で使用する生薬成分含量測定用試薬を定量規格化するための検討を行うため、qNMRを利用して2種の試薬でバリデーション実験を実施した結果、有効数字2桁程度の精度を持つ値付けが、現実的に可能であることを示した。さらに、市販されている試薬について、順次qNMRを測定し、SIトレーサブルな値付けを実施した。
  5. 一般用漢方処方の品質確保に関する研究として、平成22年薬食審査発0401第2号通知「一般用漢方製剤承認基準の改正について」の発出に向けた整理、取りまとめ等を行うとともに、同通知の解説書に相当する「改訂一般用漢方処方の手引き、平成22年4月1日通知（加減方追加）対応追補版」を上梓した。さらに、新規の27処方を一般用漢方製剤承認基準に収載（平成23年4月15日付の薬食審査発0415第1号通知）するための実務的作業を行った。
  6. 生薬大黃がLipopolysaccharide処理を施したマウスマクロファージ様細胞における炎症性サイトカインIL-6の発現を抑制することを見出した。また、大建中湯等がある種の乳酸菌の乳酸生産を促進することを見出した。
  7. 16局に新規収載された漢方処方11品目を中心として、処方及びその構成生薬について水煎出のエキス収量を測定し、エキス収量（収率）が局方における新たな品質評価指標として有用であり、また、医療用漢方製剤後発品の同等性評価の指標として適用され得ることを示した。
  8. 葛根湯について、その指標成分であるエフェドリン及びプソイドエフェドリンの血中濃度推移を検討し、製剤と湯剤の同等性について検討を行った。
  9. 生薬の品質確保に関する研究として、日本薬局方に収載された漢方エキスのうち、小青竜湯、加味逍遙散、八味地黄丸、葛根湯及び黄連解毒湯を対象にヒ素、カドミウム、水銀及び鉛の実態調査を行った。
  10. 生薬の国際調和に関する研究として、香港で開催された第8回FHH Standing Committee会議並びに第4回FHH International Symposiumに参加するとともに、Sub-Committee Iの活動として、従来の比較表に英文説明を入れた改定版を作成し、ネット上で公開

- した。
11. 依頼のあった新規な植物由来物質3品目及び化学物質4品目について専ら医薬品として使用される成分本質(原材料)であるかどうか調査を行った。
  12. 鏡検によるセンナ茎粉末と葉軸粉末の鑑定の特徴が、系統や栽培環境によらず、普遍的なものであることを示すため、系統及び栽培環境の異なった株を入手し、比較検討を行なった。さらに茎、葉軸の粉末を作成し、種々の割合で混合した試験粉末を作成し、鑑定の可否および精度について検討した。
  13. キャットクロ-製品についてDNA配列解析による原料植物の鑑別とLC-PDA-MSによる含有アルカロイドの分析を行った。その結果、上記製品には、本来の原料である *Uncaria tomentosa* の他に、別の植物の混入が認められた。また、含有アルカロイドのパターンにも違いが見られた。
  14. 健康食品素材として使用されるシャタバリ (*Asparagus racemosus*) 中の含有が報告されている毒性アルカロイド、asparagamine A について、その含有の真偽を文献調査により検証した結果、同植物からの asparagamine A の単離は、*Stemona* 属植物を誤同定したことによるものである可能性が高いことを示した。
  15. 電子タバコ吸入蒸気中のニコチン簡易分析法を開発した。
  16. LC-PDA-MS を用いた新規シルデナフィル類似構造化合物チアゾアイルデナフィルの分析法を確立した。
  17. 分子式  $C_{23}H_{32}N_6O_4S$  を示す ED 治療薬類似構造化合物について、NMR スペクトルを中心とした構造決定を試み、その物質をメチソシルデナフィルと同定した。また、分子式  $C_{27}H_{35}N_9O_5S_2$  を示し、酸性条件下でメチソシルデナフィルを生成する ED 治療薬類似構造化合物の構造決定を試みた。
  18. アキョウの局方収載に備え、主産地である中国、山東省のメーカーを視察し、原料動物の生産、管理状況等を調査した。また、アキョウの品質評価法として、アミノ酸組成分析結果の主成分分析による原料動物の鑑別法を検討した。
  19. 非麻薬性鎮咳薬 dextrometorphan と、麻薬として世界的に規制されている光学異性体 levometorphan に着目し、ラット及びヒト肝ミクロゾーム、またヒトにおいて dextrometorphan の脱メチル化に主に係わる肝ミクロゾーム中の代謝酵素 (CYP2D6及び3A4) を用いて、両異性体の光学選択的代謝を明らかにした。
  20. 合成カンナビノイド JWH-018に着目し、薬物投与ラット尿及び毛髪試料中の JWH-018及び代謝物につき、LC-MS/MS を用いた分析法を確立した。
  21. 大麻種子1粒からのDNA塩基配列による産地特定のための鑑別法の開発を目的として、DNA上の *trnH-psbA*, *matK*, *trnL-trnF* および ITS の4領域を解析した結果、栽培を目的として流通する大麻種子のDNA配列はいずれも2種類の配列パターンに分離された。
  22. 植物系違法ドラッグ製品(ブレンドハーブ)20製品についてDNA塩基配列を指標とした基原植物の特定を行った。
  23. 大麻(アサ)の生物学的同定法の開発として、カンナビノイド化合物合成に関与する *tetrahydrocannabinolic acid synthase* (THCAS) のDNA塩基配列を調査した。
  24. イネ科クサヨシ (*Phalaris arundinacea*) 全草に含まれるDMTおよび5 MeO-DMT量をGC-MSを用い調査した。
  25. 分析用標品として使用する目的で、違法ドラッグ製品より、平成23年4月から新規指定薬物として規制される予定の合成カンナビノイド JWH-251 (2-(2-methylphenyl(1-pentyl-1*H*-indol-3-yl)ethanone) 及び JWH-081 (1-(4-methoxynaphthalenyl(1-pentyl-1*H*-indol-3-yl)methanone) を精製し、構造確認および品質試験を行った。
  26. 指定薬物を中心とした合計12種類の合成カンナビノイド、大麻の主活性成分  $\Delta^9$ -THC 及び主な大麻由来成分である cannabidiol (CBD) と cannabinol (CBN) の3種類の天然化合物を加えたカンナビノイド類15化合物を対象とし、TLC, GC-MS 及び LC-MS を用いた一斉分析法を検討した。
  27. 植物系違法ドラッグ“ブルーロータス”について、成分探索を行った。
  28. セロトニンレセプター (5HT<sub>2A</sub>) と Ca<sup>2+</sup>感受性発光蛋白 aequorin を安定に共発現する組換え細胞を用いた aequorin/GPCRs cell-based Ca<sup>2+</sup> functional assay を行い、薬理活性未知の新規流通違法ドラッグ成分 5-MeO-EPT 及び ALEPH-4の5HT<sub>2A</sub> アゴニスト活性を検討した。
  29. 平成22年度新規流通違法ドラッグ成分として、新規合成カンナビノイド cannabipiperidietanone, RCS-4-*O*-isomer を含む9種の合成カンナビノイドを同定した。
  30. 平成22年度に買い上げられた違法ドラッグ製品のうち、カンナビノイド様作用を標榜した製品以外のものについてGC-MS, LC-MS およびNMR分析を行った。分析の結果、新規流通違法ドラッグ成分としてカチノン誘導体として、buphedrone, 4-methyl-

- ethcathinone, 4-methyl- $\alpha$ -pyrrolidinopropiophenone (MPPP)及びnaphyroneを同定し、フェネチルアミン誘導体として、MDAIを同定した。
31. 日本における違法ドラッグの流通実態を把握する目的で、平成20-22年度、国立衛研で買い上げた製品について、検出された化合物およびその検出数の推移について調査した。
32. 合成カンナビノイドCCH及びJWH-018のラットの脳波に及ぼす作用を明らかにした。
33. 登録販売者問題の作成に関する手引きにおける、生薬、漢方処方関係の内容の改訂作業に従事した。  
(以上厚生労働科学研究費補助金・医薬品・医療機器レギュラトリーサイエンス総合研究事業、健康安全確保研究費及び乱用薬物基礎研究費)
34. 独立行政法人医薬基盤研究所薬用植物資源研究センターを拠点とした薬用植物の総合情報データベース構築の基盤整備として、5種の生薬の凍結乾燥エキス収量を測定し、当該データベースに情報を供給した。
35. 漢方薬に使用される薬用植物の総合情報データベースの構築のため、市場に流通するショウキョウの遺伝子情報を解析した。その結果、葉緑体DNAの*trnL-F* IGS領域の塩基配列が、ショウキョウの基原植物の鑑別に有用である事が明らかになった。  
(以上厚生労働科学研究費補助金・創薬基盤推進研究事業)
36. WHO及びISO等で進行中の東アジア伝統医学の標準化作業において共通の基盤を提供し、特に海外との安全性情報の交換を可能とする様式を開発するため、天然物由来医薬品を製品ベースで分類するモデル案について検討した。  
(以上厚生労働科学研究費補助金・地域医療基盤開発推進研究事業)
37. 成分情報による半夏と天南星の鑑別法の構築のため、両生薬の水溶性エキスの<sup>1</sup>H-NMRスペクトルデータを用いたメタボローム解析を行った。その結果、スペクトルデータの主成分分析により、半夏2群および天南星2群に分類可能であることを示した。また、各試料のDNA配列の相同性を目的変数としたPLS (partial least square) 回帰分析を行ったところ、水溶性エキスの<sup>1</sup>H-NMRプロファイルとDNA配列の間に高い相関性が確認された。
38. 西洋ハーブの一般用医薬品としての承認に要求される品質規格について検討するため、ハッカ油等の成分についてGC-MS分析を行った。また、ブラックコホシユについて、温度及び光照射に対する安定性試験を行い、安定性に問題のないことを示した。
39. 欧州において医薬品として流通するベリー類及びそ

- の近縁植物のゲノム遺伝子塩基配列について解析し、PCR-RFLPによる遺伝子鑑定法を確立した。
40. ある種のヒト腸内常在乳酸菌のゲノム配列情報より作成したDNAマイクロアレイを利用して、ブラックコホシユが当該乳酸菌の増殖を促進し、それに関連する遺伝子群の発現を誘導することを見出した。
41. 生薬製剤承認基準策定のための基盤整備として、単味生薬としての承認が望まれるいくつかの生薬について、その有効性及び安全性を保證する文献情報の収集を行った。  
(以上厚生労働科学研究費補助金・政策創薬総合研究事業)
42. 当帰芍薬散のklotho欠損動物に対する影響を調べた。また、当帰芍薬散中の茯苓由来成分についてHPLC/ダイオードアレイ/MSを用いて分析を行った。  
(以上科学研究費補助金(文部科学省))
43. 16局新規収載の生薬の性状、内部形態等について検討した。

## 遺伝子細胞医薬部

部 長 鈴 木 和 博

### 概 要

遺伝子細胞医薬部は遺伝子治療、細胞治療、診断等に係わる医薬品の安全性、有効性に関する研究業務を担っている。社会的な注目度の高い「再生医療」の中心となる細胞治療薬は言うまでもなく、遺伝子治療薬、核酸医薬、個別化医療を指向した分子診断薬等もバイオサイエンスや先端のテクノロジーの急速な進展に伴って、新しい製品の開発が急ピッチで進んでいる。このような先端的な医療技術の実用化・普及には、それにふさわしい新しい視点に基づく規制を整備し、品質、有効性、安全性を確保することが必須となる。すなわち先端的なバイオ技術に基づく製品については未知・未経験の部分が多いので、その評価には新技術に関連した実験研究・調査研究を行い、その経験・知識を踏まえた判断が必要である。当部は国立研究機関の立場から、それを積極的に担った研究業務を展開している。

臨床研究がシーズを生み出すことが多いこの分野で、その成果が切れ目なく治験や実用化に繋げられる要件を示すべく、「再生医療における制度的枠組みに関する検討会」が平成21年4月より開始された。臨床医や他省の関係者、企業、患者団体等を含めた横断的な議論を2年継続して行った。平成22年度は医薬食品局審査管理課が

事務局となり、前年度の議論を拡大して、より広範に制度的枠組みを検討した。当部からは鈴木部長が委員になるとともに、佐藤室長が欧米5カ国への出張による調査結果を整理して報告するなど、貢献した。結果として、確認申請は廃止され開発早期からの薬事戦略相談が立ち上がることになり、報告書が平成23年3月にまとめられた。分子診断薬の分野では国際バイオ EXPO で特設コーナーが設けられているように、遺伝子やタンパク質解析手法の急速な進展を背景として、製品開発が極めて活発な状況にある。個別化医療は一般の医療イノベーションの主要な柱のひとつにもなっている。鈴木孝昌室長は、平成22年度において遺伝子発現解析用診断薬を対象とする「次世代医療機器評価指標作成事業」の事務局を、医療機器部とともに担当した。この指標作成班は平成23年度も継続する。

これら先端的なバイオ技術応用医薬品は、体がもつ修復能力を超えた治療を行う面と、疾患関連遺伝子などの個人情報に属する内容を含む面があることから、生命倫理問題等の高度な社会性をもつ課題でもある。常に新しい考え方を深く考察するとともに、所内の研究倫理審査委員会に参画し、ホームページからは新しい情報を発信するよう活動している。

人事面では、協力研究員として平成22年10月1日より黒田拓也氏を、平成23年1月1日より草川森士博士を迎えた。

海外出張としては、佐藤室長が国際幹細胞サミットへの参加・情報収集および専門家との討論を目的として、平成22年10月2日から8日まで米国ミシガン州デトロイト市で開催された2010国際幹細胞サミットに出席した。さらに欧州における再生医療の臨床試験・薬事承認に関する規制動向の調査を目的として、平成22年11月29日から12月8日までドイツ、ランゲン市で開催された国際生物薬品学会 (IABS) 理事会に出席するとともにイタリア、ローマ市のイタリア国立衛生研究所を訪問した。また鈴木孝昌室長は、平成23年2月に、インド、タミルナド州アンナ大学のラジャグ博士を訪問、小核試験に関する国際ワークショップに参加し、講演を行うとともに、同ワークショップに参加したインド国立労働衛生研究所のラビチャンドラン博士とヒ素暴露を受けた住民からのサンプル調製に関する打ち合わせを行った。

## 業務成績

厚生労働省薬事・食品衛生審議会臨時委員として医療機器安全対策部会及び安全技術調査会の審議に協力した。(独)医薬品医療機器総合機構専門委員として医薬品一般名称 (JAN) に係る専門協議に協力した。また、日本薬局方原案審議委員会生物薬品委員会及び名称委員

会において日本薬局方の改正作業に協力した。国際厚生事業団の平成22年度集団研修「薬事行政」に協力した。次世代医療機器再生医療審査ワーキンググループの事務局として、テーラーメイド医療用診断機器 (DNA チップ等を用いる遺伝子発現解析装置) に関する評価指標の作成を行った。

## 研究業績

### 1. 遺伝子治療薬及び細胞・組織加工医薬品の特性と品質評価に関する研究

- (1) 「再生医療実用化に向けた細胞組織加工医薬品の安全性・品質等の確保に関する基盤技術開発研究」
  - ① E型肝炎ウイルス (HEV) の核酸増幅検査による測定精度管理に用いる標準パネルを樹立した。(厚生労働科学研究費補助金)
  - ② 多能性幹細胞の特定細胞系譜 (心筋細胞) への分化傾向を予測するためのバイオマーカー候補および間葉系幹細胞の虚血部位選択的血管新生作用のバイオマーカー候補を同定・評価した。(厚生労働科学研究費補助金)
  - ③ 細胞組織加工医薬品の品質評価に向け、骨髄由来間葉系幹細胞の特異的細胞表面マーカーである10種のCD分子種を、ナノLC-MS/MSを用いた高感度プロテオーム解析法により同時定量する方法を確立した。(厚生労働科学研究費補助金)
- (2) 「医薬品等の品質・安全性に係る国際的動向を踏まえた評価に関する研究」として遺伝子治療薬や腫瘍溶解性ウイルス製品を投与した患者の分泌物・排泄物からのウイルス・ベクターの排出と伝播に関する国際調和指針に盛り込むべき要件について、特に非臨床及び臨床試験での排出試験のあり方と伝播のリスク評価の観点から考察した。(厚生労働科学研究費補助金)
- (3) 「遺伝子治療臨床研究推進のための指針見直しに向けた調査研究」として、現行の「遺伝子治療臨床研究に関する指針」について、遺伝子治療の科学的進歩やこれまでの臨床研究の申請、審査における問題点、遺伝子治療規制の国際動向等を踏まえて全面的に見直しを行い、改正案を作成した。(厚生労働科学研究費補助金)
- (4) 「胚性幹細胞 (ES細胞)、人工多能性幹細胞 (iPS細胞) 及び体性幹細胞の樹立及び分配に関する指針策定のための調査研究」の一環として、遺伝子導入技術を用いて作製したiPS細胞の品質・安全性について、遺伝子治療の観点からどのように評価すべきかを検討した。(厚生労働科学研究費補助金)
- (5) 安全性の高い新規遺伝子治療薬として、慢性肉芽腫症の原因遺伝子 gp91phox を搭載した持続発現型セン

ダイウイルスベクターの開発を検討し、ヒトの臍帯血由来造血幹細胞・前駆細胞に効率よく遺伝子導入できること、7週間持続発現し、顆粒球細胞の活性酸素産生能を増幅することを検証した。(一般試験研究費)

- (6)「ヒト幹細胞と用いた細胞・組織加工医薬品等の品質及び安全性の確保のあり方に関する研究」として、ヒト(自己)体性幹細胞、ヒト(同種)体性幹細胞、ヒト(自己)iPS(様)細胞、ヒト(同種)iPS(様)細胞、ヒトES細胞を加工した医薬品等の品質及び安全性の確保に関する指針案(計5指針)の取りまとめにおいて、最新の知見を考慮に入れ、昨年度作成した指針案を修正・更新して最終段階のものを作成した。また、平成21年度および22年度に実施した米国、EUおよび英独仏伊各国の規制当局者へのインタビューをもとに、再生医療および細胞・組織加工医薬品等の規制の状況および考え方を分析し、総説としてその成果を報告した。(厚生労働科学研究費補助金)
- (7)「再生医療実用化加速に資する評価基準ミニマム・コンセンサス・パッケージ策定に関する研究」として、国内で「ヒト幹細胞を用いた臨床研究」としてすでに実施されている再生医療研究、および国内外の多能性幹細胞加工製品の開発状況・規制に関する情報を収集し、臨床研究から治験にシームレスに移行するために必要なデータの最低要件(ミニマムコンセンサスパッケージ)および品目種別に上乗せとして必要なデータの要件をまとめた。(厚生労働科学研究費補助金)
- (8)「多能性幹細胞由来移植細胞の安全性評価研究」として、ヒトiPS細胞から誘導した分化細胞中に残存するiPS細胞(多能性細胞)を検出するための試験系として、フローサイトメトリーおよび定量性RT-PCRの評価系の開発を行い、その性能評価を行った。(科学技術振興調整費)
- ## 2. 医薬品の有効性と安全性評価の基盤となる生物化学的研究
- (1)「抗体医薬品等のバイオ医薬品の合理的開発のための医薬品開発支援技術の確立を目指した研究」の一環として、抗体医薬品の製造工程に共通に適用可能なウイルス除去工程としてポリエチレンイミン(PEI)を結合したウイルス除去カラムの開発に着手し、PEIを固相化する最適なクロマト樹脂の選定とPEIの最適化を行った。(保健医療分野における基礎研究推進事業)
- (2)「発生・増殖・情報伝達に関与する因子並びに分子の安全性・生体影響評価に関する研究」として前骨髄球系細胞の分化に関与する候補タンパク質を同定した。(特別研究)
- (3)「ジアシルグリセロールキナーゼ $\eta$ による細胞増殖

制御機構の解明に関する研究」として、生体におけるジアシルグリセロールキナーゼ $\eta$ の役割を解明するため、ジアシルグリセロールキナーゼ $\eta$ 変異マウスを作製した。(科学研究費補助金(文部科学省))

## 3. 診断用医薬品に関する基礎的研究

- (1) バングラディシュのヒ素汚染地域住民から得られた尿サンプルを、ナノLC-MS/MSを用いた高感度プロテオーム解析を用いて解析することにより、ヒ素症状と相関する尿中バイオマーカーの検索を行い、候補ペプチドの同定を行った。(地球環境保全等試験研究費)
- (2) 糖尿病の正確診断のための新規バイオマーカーの探索のため、糖尿病モデルマウスより得られた糖修飾タンパク質の構造解析を行った。(一般試験研究費)
- (3) 骨髄由来間葉系幹細胞の遺伝的安定性を調べるため、染色体変化を検出した細胞株に対して長期培養の前後での遺伝子配列の変化を、次世代シーケンサーを用いたシーケンス解析により検討した。(厚生労働科学研究費補助金)

## 医療機器部

部 長 松 岡 厚 子

### 概 要

平成22年12月8日に日本発の植込み型補助人工心臓システム2品目が製造販売承認を取得した。サンメディカル社のEVAHEARTとテルモ社のDuraHeartである。医療機器承認審査において国産の医療機器の申請が少ないなか、高度管理医療機器で国産のものが、2台同時に承認されるに至ったことは画期的なことである。承認に至るまでには、企業努力はもとより、関連学会から厚生労働大臣への要望書の提出、患者団体からの約7万名の署名、さらには、複数の関連学会よりなる協議会が作成された植込み型補助人工心臓実施基準等の作成と積極的な後押しがなされた。加えて、当部が事務局を務めて原案を作成している「次世代医療機器評価指標-次世代型高機能人工心臓」が本省より通知として発出されており、それがPMDAでの審査の迅速化にも役立ったこと等、各方面からの努力が上記の承認に結びついたことは大変喜ばしいことである。

人事面では、しばらく空席となっていた第二室長に、平成22年7月1日付けで、薬理部の宮島敦子主任研究官が昇任した。宮島室長は既に、第二室が担当する生物学的安全性試験等についての経験と知識を有しており、今後の活躍が期待される。また、平成23年4月1日付けで

植松美幸研究員が主任研究官に昇任した。

松岡は、ナノ材料の医療への応用及び安全性評価に関する国際会議 Nanotheranostics International Conference に参加するためアヤナパ（キプロス）に出張し、ポスター発表及び意見交換を行った。松岡と中岡は ISO/TC194/SC1/WG1再生医療製品の安全性に関する討議に参加するため、平成22年6月ベルン（スイス）に出張した。松岡及び加藤は ISO/TC194総会出席のため、平成22年6月ベルリンに出張し、それぞれ担当のWGにおいてISO文書策定の討論に参加した。松岡及び宮島は平成22年7月バルセロナで開催された国際毒性学会に参加し、それぞれポスター発表を行った。平成22年9月にはオランダ（米国）で ISO/TC150総会が開催され中岡が出席し、文書策定に参加するとともに、SC7国際幹事としての業務を分担した。平成22年10月、松岡及び植松は第74回 IEC 会議に出席するためシアトルに出張し、TC62の担当WGに出席しIEC文書策定に参加した。松岡は平成22年12月、中国生物医学工程学会設立30周年記念大会で企画された中日ミニシンポジウム「ナノ材料の生物学的安全性評価」に招待され、北京に出張し、ラット13週間気管内反復投与試験を行ったナノ材料に関する講演を行った。迫田はアメリカ整形外科学会に出席するため、平成23年1月ロングビーチに出張し、人工関節材料に関する発表及び情報収集を行った。平成23年1月、松岡は ISO/TC194/WG9, 12, 15会議に出席するためミラノへ出張した。平成23年3月、宮島は第50回アメリカトキシコロジー学会に参加するためワシントンDCに出張し、Levomethorphan のヒト肝薬物代謝酵素による代謝についてポスター発表を行った。

平成22年10月15日に第8回医療機器フォーラムを開催し、「動物実験の最前線：疾患動物治療を用いる医療機器の有効性、安全性評価」をテーマとした。疾患モデル動物、ヒトと動物間における組織学的・解剖学的相同性及び行政担当部門からの講演からなる1日のフォーラムで、最後に動物実験の現状と将来像についてパネルディスカッションを行った。

## 業務成績

### 1. 単回使用視力補正用色付コンタクトレンズ試験検査

回収されたコンタクトレンズのキズや気泡等の物理的不具合のほか、レンズ抽出液及び保存液中のデカン酸をはじめとした原材料由来の化合物及びギ酸、酢酸、ラウリン酸、脂肪酸エステル類、BHT等の当該製品に使用されていない化合物の溶出及び残留量について検討した。（医薬品審査等業務庁費、厚生労働省医薬食品局監視指導・麻薬対策課）

### 2. 医療機器及び細胞組織医療機器関係国際調和・国内基準等作成業務

ISO/TC150/SC7（再生医療機器）幹事国業務委員会に参加し幹事国としての運営及び業務を行った。ISO/TC150（外科用インプラント）国内委員会、ISO/TC194（医療機器の生物学的評価）国内委員会、日本バイオマテリアル学会標準化委員会に参加し国内における医療機器の標準化作業に関する業務を行った。また、工業団体が作成した14件のJIS原案、6件の医療機器承認基準原案及び315件の医療機器認証基準原案について国際規格との整合性評価を行った。（医薬品審査等業務庁費）

## 研究業績

### I. 次世代医療機器評価指標作成事業

I-1 再生医療WG：歯周組織破壊を伴う歯周疾患（歯肉炎）等の治療を目的として適用されるものであって細胞シート状の製品についての評価指標素案を作成した。さらに、歯周組織再生に関する国内外の最新情報についての調査収集も行い、報告書に纏めた。（医薬品審査等業務庁費）

I-2 コンピュータ診断支援装置審査WG：コンピュータ診断支援ソフトウェアを巡る国内外の動向を調査すると共に、装置に組み込まれた同ソフトウェアの安全性と有効性を科学的根拠に基づいて適正且つ迅速に審査するための評価指標素案を作成した。（医薬品審査等業務庁費）

I-3 カスタムメイド分野WG：整形インプラントのうち、カスタムメイドインプラントのニーズが高く、臨床における研究報告も多くある人工股関節について、カスタムメイドインプラントの評価指標素案を作成した。（医薬品審査等業務庁費）

I-4 テーラーメイド医療用診断機器審査WG：DNAチップ等を用いて、特定の遺伝子群の発現量を測定し医療情報を解析する装置を、診断補助装置として臨床導入するための評価指標素案を作成した。また、臨床性能の評価および承認申請に関する問題点を整理した。（医薬品審査等業務庁費）

### II. 材料/細胞・組織界面特性に着目した医用材料の新規評価方法の開発に関する研究

II-1 プロテオミクス解析を利用した医用材料の生体適合性・機能評価に関する研究：チタン表面への血清蛋白質の吸着挙動を解析した結果、未処理プレートに比較して、化学処理プレート上には骨形成に深く関与する蛋白質群が有意に結合した。また、同蛋白質の吸着挙動は化学処理の違いにより変動したことから、チタン材料の骨親和性は蛋白質の吸着パターンから予測

可能であることが示唆された。(厚生労働科学研究費補助金)

II-2 自己組織化膜を利用したモデル表面材料調製と細胞機能を利用した細胞挙動解析：2種類の官能基からなるモデル表面上で細胞間連絡機能への影響を検討したところ、官能基の組み合わせを変えて調製した表面の化学的特性と物理化学的特性各々が独立して細胞挙動に影響を与える可能性が示された。(厚生労働科学研究費補助金)

II-3 遺伝子発現の網羅的解析を利用した医用材料上で培養した細胞の生化学的・生物学的試験：医用材料として純チタン(Ti)、細胞としてヒト骨髄由来間葉系幹細胞(hMSC)に着目し、骨再生医療製品等を想定してhMSCの網羅的遺伝子解析を行った結果、hMSCを純Ti上で培養する事により細胞の増殖が止まり、hMSCが骨へと分化する方向へ変化する可能性を見出すことができた。(厚生労働科学研究費補助金)

II-4 生体適合性材料の機能と生物学的特性評価に関する検証試験：純チタン上で培養した間葉系幹細胞(hMSC)のタンパク質と、通常の培養シャーレ上で培養したhMSCのタンパク質との発現挙動をショットガン解析により比較した結果、チタンプレート上ではhMSCの増殖・分裂が抑制される傾向が示唆された。(厚生労働科学研究費補助金)

II-5 整形インプラント材料の界面特性に着目した新規評価方法の開発：摩擦特性評価の基礎となる摩擦係数を測定するシステムを構築し、測定を行ったところ過去の文献と同様の結果が得られ、システムの妥当性が示された。(厚生労働科学研究費補助金)

II-6 分子シミュレーションを用いた材料表面水和状態の検討：血液適合性がよいとされる高分子材料を選定し、その1ユニット分の構造をもつ材料表面と水分子との相互作用を可視化し、拡散係数を導入することで材料近傍の水の結合状態をシミュレーションした。(厚生労働科学研究費補助金)

II-7 表面処理を行った整形インプラント材料の潤滑状態の検討：ポリマーブラシを付与した整形インプラント用軸受材料の潤滑状態をシミュレートするため、散逸粒子動力学法による計算プログラムの開発を行った。(厚生労働科学研究費補助金)

### III. 安全性評価・材質改変に関する研究

間質細胞の免疫調節(抑制)効果に関するシグナル経路の解明：間質細胞の一種である軟骨細胞が活性化免疫細胞を抑制する効果があるかを検討した結果、マウスリンパ球活性化反応をマウス軟骨細胞が抑制できることを確認し、同種での抑制効果の再現性を確認できた。さ

らにマウス軟骨細胞は免疫原性も低いことが分かった。また、再現性の確認が必要ではあるが、ウサギ軟骨細胞およびヒト軟骨細胞といった異種の軟骨細胞がマウス活性化リンパ球の細胞増殖を抑制することも明らかにした。(特別研究)

### IV. 健康研究成果の実用化加速のための研究開発システム関連の隘路解消を支援するプログラム

患者別に機能発現する階層構造インプラント：カスタムメイドインプラントの薬事規制や標準化の状況について調査した。電子ビーム積層造形法で使用する金属粉末の細胞毒性を評価した。(科学技術振興調整費)

### V. 再生医療に用いられる間葉系幹細胞の品質及び安全性の評価に関する研究

V-1 培養細胞に対するin vitroエンドトキシン規格値の設定に関する研究：骨髄由来間葉系幹細胞及び脂肪組織由来幹細胞の増殖能と骨芽細胞への分化能は低濃度のエンドトキシンにより有意に増強された。一方、両細胞の脂肪細胞への分化能はエンドトキシンにより大きな影響を受けないことが判明した。(一般試験研究費)

V-2 間葉系幹細胞の有効性(特に免疫抑制効果)評価に関する研究：様々な細胞種での活性化リンパ球の細胞増殖抑制効果の有無を検討した。その結果、間葉系幹細胞だけでなく、軟骨細胞は異種であろうと抑制効果を持っていたが、CHL(Chinese hamster lung: チャイニーズ・ハムスター肺由来株細胞)及びHEK293(human kidney: ヒト胎児腎細胞由来株細胞)は抑制効果を有していないことが分かった。(一般試験研究費)

V-3 幹細胞のin vitro培養工程における遺伝子発現の動態解析による評価技術の開発：名古屋大学との共同研究。がん化などの望ましくない変化の指標となり得る候補遺伝子を抽出するために、間葉系幹細胞のin vitro培養時の細胞形態の変化の画像解析と遺伝子発現変化の網羅的解析を行った。(一般試験研究費)

### VI. 医療機器・医用材料の耐久性・疲労・寿命に関する研究

VI-1 整形インプラント製品の機械的適合性評価：主に人工膝関節のポリエチレンコンポーネントに発生する破壊形態である、デラミネーションの発生を再現する試験法を確立した。また、デラミネーションの発生までの期間により、材料が評価可能であることが示唆された。(一般試験研究費)

VI-2 形状測定装置を用いた抜去インプラントの摩耗状態の研究：不具合により抜去された人工股関節の摩耗量を測定するための数値処理法について、股関節シミュレータ試験後のサンプルを用いて検証を行った。

その結果、この手法を用いることで実用上十分な精度で摩耗量を算出できることが確認できた。(一般試験研究費)

#### VII. テーラーメイド医療機器開発に関する基礎的研究

人工心臓弁機能不全のリスクアセスメント手法開発：人工心臓弁機能不全の原因となる日本人の遺伝子多型を探索するために人工心臓弁を使用している患者の血液を用いて SNP タイピングを行い、人工心臓弁の機能不全の有無間でのアレル頻度に有意差の認められた SNP を見出した。(一般試験研究費)

#### VIII. 医療機器の適正使用に関する研究

医療機器の製造工程に対する監査手法に関する研究：国立保健医療科学院での薬事衛生管理研修における医療機器部分の企画・設計を行うとともに、QMS 模擬査察演習を含むその運営の補助を行った。(一般試験研究費)

#### IX. ナビゲーション医療技術を用いたリアルタイム安心安全手術に関する研究

IX-1 信頼性の高い手術支援システム構築に向けた外科医の技量評価に関する人間工学的研究：体表レジストレーションの結果を活用しながら、体内の点による補正を行うレジストレーション法を提案し、ファントムにより評価した。提案法は従来法と比較して誤差が軽減する可能性が見いだされた。(科学研究費補助金(文部科学省))

IX-2 大血管ナビゲーションを駆使した術者のイメージング能力向上に寄与する革新的治療戦略：ベッドに設置するマーカシステムを開発した。レジストレーション後にベッドを動かしても、それまでの結果を利用できるため、再レジストレーション作業を減らすことにつながった。(科学研究費補助金(文部科学省))

#### X. ナノ医用材料等の安全性評価法の開発・標準化に関する研究

国際共同研究グループ International Alliance for Nano EHS Harmonisation (IANH) の Round Robin test に参加し、RAW 細胞、R3/1細胞を用いた細胞毒性試験について検討し、結果を IANH に報告した。また、CHL 細胞を用いてナノ材料に対する細胞毒性を比較検討した。(一般試験研究費)

## 生活衛生化学部

部長 西村 哲治

### 概要

生活関連製品や生活環境に由来する化学物質が原因と

なる健康への影響についての社会的関心は高く、調査研究業務から得られた成果を国民の健康に対する安全と安心の確保に寄与していく重要性が増してきている。

当部は、室内空気、化粧品および医薬部外品、水道用水および水道用資機材、生活用品など、生活環境にある製品に由来する化学物質の理化学的試験、調査ならびに衛生学的な試験と検査基準に関する調査、研究を通じて、国民の安心・安全の確保に貢献することを目指した。

また、都道府県の衛生研究所および水道事業者等の関連部門と協同して調査・研究を実施し、生活環境にある製品に起因する化学物質の経気道的、経皮的もしくは経口的な曝露に関する規格やガイドライン作成などの厚生労働行政への技術的支援を行うとともに、関連分野の国際貢献を積極的に実施した。

短期海外出張は、神野室長および香川主任研究官が第2回日韓環境化学シンポジウム、西村部長および五十嵐室長が第12回国際毒科学会、内野主任研究官が第13回ヨーロッパ動物実験代替法学会年會、伊佐間室長が第23回ヨーロッパバイオマテリアル学会、西村部長および河上研究員が第30回残留性有機ハロゲン化汚染物質国際シンポジウム、西村部長および杉本室長が Pacificchem 2010において研究成果の発表を行った。さらに、西村部長が、EPA 主催過フッ素アルキル酸ワークショップ、韓国環境毒性保健学会2010、第4回世界薬学会議、米国リスク分析学会、米国毒性学会において研究成果の発表を行った。また、OECD 工業用ナノ材料作業部会第7回スポンサーシッププログラム会議、酸化チタンスポンサーシッププログラム専門家会議、グループ7専門家会議に出席した。

西村部長は、第4回化粧品規制協力国際会議に、パーソナルケア製品のナノテクノロジーに関する ICCR アドホックワーキンググループの報告を連名で提出した。

人事面では、平成23年1月1日付けで生活衛生化学部第3室に小林憲弘博士を研究員として採用した。

杉本室長が日本食品化学学会第16回総会・学術大会において学術奨励賞を受賞した。また、西村部長が日本水環境学会論文賞を受賞した。

### 業務成績

#### 1. 室内空気関係

1) 家電製品(薄型テレビ、パーソナルコンピューターおよびプリンター)9製品について大形チャンバー法による放散試験を実施し、室内空気へのVOC負荷量を定量的に解析するとともにサンプリングバッグ法による評価結果との相関について検討を行った。(厚生労働省医薬食品局審査管理課化学物質安全対策室)

2) 東京都内3カ所(霞ヶ関, 新宿御苑, 北の丸公園)の国設自動車排出ガス測定局において, 二酸化硫黄, 窒素酸化物, オキシダント, 一酸化炭素, 炭化水素, 浮遊粒子状物質及びPM2.5の常時監視を実施した。(環境省水・大気環境局自動車環境対策課)

## 2. 化粧品・医薬部外品関係

1) 医薬品等一斉監視指導に係わる試験検査として, チオクト酸( $\alpha$ -リポ酸)を含有する化粧品及び医薬部外品について, これら成分が配合制限量内にあるかどうか調査した。(医薬品審査等業務庁費, 医薬安全局監視指導・麻薬対策課)

2) 医薬部外品原料の規格設定に協力した。

## 3. 水道関係

1) 登録検査機関220機関, 水道事業者139機関および公的研究機関44機関に対して, カドミウムおよびフェノール類について統一試料外部精度管理調査を実施し, 統計解析, 水道水質管理のための改善点を提言した。(食品等試験検査費水道安全対策費, 健康局水道課)

2) 水質基準項目のハロ酢酸類について, LC/MSによるハロ酢酸類の一斉分析法が水道水質検査法として適用可能であることを確認した。水道水中のイオン濃度を考慮し, 検水中に陰イオンが高濃度で存在する場合を想定したモデル実験を行った結果, 基準値の10分の1以下まで再現性良く直接定量分析できることがわかった。(食品等試験検査費水道安全対策費, 健康局水道課)

3) 水質基準逐次改正検討会, 水道水質検査精度管理検討会, 水道水質検査法検討会, 水道における微生物問題検討会, 水道用薬品基準に関する調査委員会に協力した。

## 4. 家庭用品関係

1) 有害物質含有家庭用品規制法におけるトリフェニル錫化合物及びトリブチル錫化合物の基準改定に向けたラウンドロビンテストを実施した。(家庭用品等試験検査費)

2) 欧州などで接触皮膚炎被害が報告されている革製品・家具類の防カビ剤であるフマル酸ジメチル及びその類縁物質の実態調査を行った。(家庭用品等試験検査費)

3) 乳幼児が誤飲する可能性のある合成樹脂製家庭用品からの有害8元素(アンチモン, ヒ素, バリウム, カドミウム, クロム, 鉛, 水銀及びセレン)の溶出量を調査した。(家庭用品等試験検査費)

4) デスクマット(原因物質: 2,3,5,6-テトラクロロ-4-(メチルスルホニル)ピリジン)の使用に伴う重大製品事故について情報収集等を行い, 原因及び対策について検討した。

5) 家庭用品安全対策調査会及び家庭用品専門家会議に協力した。

## 研究業績

### 1. 室内空気関係

1) 生活環境化学物質の分析化学的研究

(1) ハウスダストを介した準揮発性有機化合物の多経路暴露を明らかにする目的で, GC/TOF-MSによるハウスダスト中の化学物質の網羅的な測定法並びにデコンボリューション解析法を確立し, 一般家庭を対象としてリン酸トリエステル系難燃剤/可塑剤による室内環境の汚染実態を調査した。(厚生労働科学研究費補助金)

(2) Micro-Chamber/Thermal Extractor法による揮発性/準揮発性有機化合物(SVOC)放散量の評価手法を確立し, デスクマット及び椅子張り合成皮革20製品からのSVOCの放散量を定量的に評価した。(厚生労働科学研究費補助金)

2) 生活環境化学物質の安全性評価に関する研究

(1) テルペン類酸化生成物によるヒトTRPV1及びTRPA1イオンチャネルの活性化について検討を行い, 1-Methyl-4-acetylcyclohexeneによる両イオンチャネルの活性化を明らかにした。(科学研究費補助金(日本学術振興会))

(2) 家庭用品から放散される可能性のあるアクリル酸/メタクリル酸/フマル酸エステル類20物質についてTRPイオンチャネルの活性化能を評価した。(厚生労働科学研究費補助金)

(3) 精油及びその構成成分であるテルペン類によるヒトTRPV1及びTRPA1イオンチャネルの活性化について検討を行った。(特別研究)

(4) 家庭用品から放散される揮発性物質のメタクリル酸エステル類の皮膚感作性をLLNA-DA法及びh-CLAT法を用いて評価した。(厚生労働科学研究費補助金)

3) 生活環境化学物質の暴露評価に関する研究

(1) 室内空気を汚染する虞のある化学物質を調査する目的で, 機能カーテン及び床材24製品から放散するVOCを探索し, アクリル酸2-エチルヘキシル等のVOCを同定した。(厚生労働科学研究費補助金)

(2) 家庭用品に由来する化学物質の多経路暴露評価手法の開発を目的として, リン酸エステル系難燃剤/可塑剤についてCONFLEX/DFT/COSMOthermにより推算した熱力学物性値と文献値の比較を行い, LogPow値等について良好な相関が見られることを明らかにした。(厚生労働科学研究費補助金)

(3) 塩素代替消毒剤としてのモノクロラミンの適用可

能性について検討する一環として公衆浴場浴槽水中の消毒副生成物の調査を行い、抱水クロラールやハロアセトニトリル類が比較的高濃度で存在することを明らかにした。(厚生労働科学研究費補助金)

## 2. 化粧品・医薬部外品関係

### 1) 化粧品・医薬部外品の分析化学的研究

- (1) 洗顔石けん中の火山灰由来原料等不溶性異物の分離法の確立を行い、その形状から眼傷害性を評価した。(医薬品審査等業務庁費, 医薬安全局審査管理課)
- (2) イオンペア HPLC 法及びグラジエント HPLC 法による殺菌防腐剤の一斉分析法についてバリデーション研究を実施した。
- (3) 化粧品及び医薬部外品中の不純物濃度の実態調査に関する研究として、ICP-MS を用いた市販化粧品及び医薬部外品中の鉛量の実態調査を行った。(厚生労働科学研究費補助金)

### 2) 化粧品・医薬部外品の健康影響評価に関する研究

- (1) ナノ物質等を配合した化粧品及び医薬品部外品の安全性及び品質確保に係わる試験法に関する研究として、シリカの細胞毒性、ケモカイン産生能及び他の感作性物質のケモカイン産生増強作用について酸化チタン等との比較を行った。(厚生労働科学研究費補助金)
- (2) 樹状細胞を含む3次元培養ヒト皮膚モデルを用いた皮膚感作性試験代替法に関する研究として、皮膚感作性試験法の施設間再現性検討予備試験を実施した。また、皮膚感作性試験法の化粧品製品への応用について検討を行い、本試験法がクリームや乳液等の製品に適用可能であることを示唆した。(日本動物実験代替法学会助成金)

## 3. 水道水の安全性評価に関する研究

- 1) 水道における水質リスク評価および管理に関する総合研究として、qNMRにより残留農薬試験用市販標準品の絶対純度を測定した。塩素処理反応生成物の標品の合成と毒性評価を行った。都内の給水栓水を対象に塩化ビニルモノマーおよびEDTAについて実態調査を行った。有機フッ素化合物の東京近郊飲料用井戸水の実態調査を実施した。(厚生労働科学研究費補助金)

- 2) 臭気物質およびVOCの信頼性の高い網羅的迅速定量分析法の開発を開始した。測定対象化合物の絶対純度、GCの保持時間、NMRやMSスペクトルのレスポンスファクター値などをデータベース化し、標準物質がなくてもSIトレーサブルに対象物質の定性および定量を行うことができる多次元データベースの構築を検討した。(厚生労働科学研究費補助金)

- 3) ミクロキスチン-LR, -YR, -RR についての、初代ラット肝細胞における細胞毒性の競合作用を検討し、一部のミクロキスチンの複合的な添加は、相加的な細胞毒性を生じることが判明した。さらに、ミクロキスチン-RR の同族体4種を高純度に精製し、純度検定を行った後、初代ラット肝細胞における毒性評価を行い、同族体の化学構造の差異が、細胞毒性の強弱に影響をもたらしていることが示唆された。(地球環境保全等試験研究費)

- 4) 神経細胞特異的分化マーカーであるNSEとMAP2の発現強度を指標とするマウスES細胞による評価試験系を確立し、環境汚染微量化学物質の神経系分化過程における影響を評価した。(地球環境保全等試験研究費)

- 5) ベンゾ [a] ピレンー塩素置換体等について、微生物を用いた変異原性試験を実施した。また、マウス胎性幹細胞の神経細胞分化過程に対する影響を検討した。(科学研究費補助金(日本学術振興会))

- 6) ステロイドホルモン受容体に作用する化学物質の内、水酸化多環芳香族炭化水素9種を選択し、それらの市販試薬の絶対純度をqNMRにより測定し、SIへの計量トレーサビリティの確保を行い、毒性試験の結果にフィードバックした。(厚生労働科学研究費補助金)

- 7) qNMR多変量解析を用いた水環境中の有害化合物のモニタリング技術の開発を目的として、600MHz NMRで得られるNMRスペクトルの定量精度を検証した。その結果、標準プローブ付600MHz NMRで1.1~2.1mM、コールドプローブ付600MHz NMRで0.23~0.46mM以上の試料濃度があれば、誤差±1%以内で精度良く定量分析が可能であることを見出した。(科学研究費補助金(日本学術振興会))

## 4. ナノマテリアル関係

- 1) 反復尾静脈投与後のC60の体内挙動について、投与後最大28日目までの実験動物を用いて体内動態を評価し、肝臓、腎臓、肺、脾臓、脳における臓器中C60量の経時的変動を明らかにした。(厚生労働科学研究費補助金)

- 2) フラーレンの腸管吸収および体内動態に関する評価を行うため、高濃度のフルーレン投与溶液を作成し、ラットに強制経口投与して動態を評価した。

- 3) カーボンナノマテリアルによる肺障害と発がん作用の中期評価法とその作用の分子機序解析法の開発に関する研究として、カーボンナノチューブの元素分析、カーボンブラック粒子の分散性及びその細胞毒性を調べた。市販化粧品中のフルーレンを定量した。(厚生労働科学研究費補助金)

4) ナノ物質の経口暴露による免疫系への影響評価手法の開発に関する研究として、化成品及び原料シリカについて各種分散液中での粒度分布を測定し、ヒト単球由来細胞株に対する細胞毒性を調べた。(食品健康影響評価技術研究委託費)

#### 5. 有害環境因子の生体影響評価指標に関する研究

1) 尿中バイオマーカーを用いた簡便迅速な環境汚染物質の生体影響評価法の確立に関する研究として、バングラディッシュのヒ素汚染地域住民のヒ素症状と尿中8-OHdG濃度及びヒ素代謝物濃度との相関性について検討を行い、尿中8-OHdG濃度、総ヒ素濃度及びヒ素代謝物濃度の減少に伴い、ヒ素症状発症者の症状の軽減が見られることを明らかにした。(地球環境保全等試験研究費)

2) 皮膚資質の構造修飾が皮膚細胞機能に与える影響の評価に関する研究として、紫外線によってヒト皮膚に生じるスクアレン過酸化物の6種類の異性体のうち、4種類の3次元培養ヒト皮膚モデルに対する細胞毒性及び炎症性サイトカイン放出に与える影響を検討し、顕著な細胞毒性は見られず、酸化修飾部位の違いによりIL-1 $\alpha$ 産生量が異なることを明らかにした。(科学研究費補助金(文部科学省))

#### 6. 食品添加物・健康食品に関する研究

(1) 既存添加物の有効性と品質を確保するための規格試験法の開発に関する研究としてカラメルI~IV市販製品の区別分類、原材料の特定、不純物2-アセチル-4-テトラヒドロキシブチルイミダゾール(THI)および4-メチルイミダゾール(4-MeI)の絶対定量が可能であるか検討した。その結果、qNMR多変量解析がカラメルI~IVを判別するための有効な手法の一つと成り得ることが示唆された。(厚生労働科学研究費補助金)

(2) 藻類が産生する毒素の市販試薬やマイコトキシンの市販標準品の絶対純度を測定した結果、ラベル表示値が絶対量を示していないことを明らかとした。また、定量用標準品の純度試験のバリデーションに参加した。

#### 7. 家庭用品関係

1) 家庭用品に含まれる化学物質の分析化学的研究

(1) 繊維製品、水性製品及び油性製品に含まれるトリフェニル錫化合物及びトリブチル錫化合物のGC-MSによる分析法を策定した。

(2) 乾燥剤等に含まれるフマル酸ジメチル、フマル酸ジエチル、フマル酸ジブチル、マレイン酸ジメチル、マレイン酸ジエチル及びマレイン酸ジブチルの一斉分析法を確立した。

2) 家庭用品に含まれる化学物質の安全性に関する研究

家庭用品から皮膚表面へと移行する化学物質の定量的・速度論的評価手法の開発に関する研究として、フタル酸エステル類を含有するポリ塩化ビニル製シートを被験者の皮膚に貼付し、皮膚表面へのフタル酸エステル類の移行挙動を評価した。(厚生労働科学研究費補助金)

#### 8. 金属材料等の表面特性に関する研究

アパタイト形成におけるイオン吸着挙動の解析として、アルカリ処理及びカルシウム導入処理を施したチタン材料を擬似体液に浸漬し、カルシウム、マグネシウム及びリン酸イオンの吸着挙動を評価した。(厚生労働科学研究費補助金)

## 食 品 部

部 長 松 田 り え 子

#### 概 要

食品部では食品中の農薬等をはじめとする有害物質等の試験検査に係わる研究を通して、食品の安全性に関する研究を行っている。この研究においては、全国の地方衛生研究所や食品衛生登録検査機関から多大な協力を頂いている。食品衛生法に基づく規格・基準に関連する分析法の開発及び評価に関する研究、規格基準のない有害物質による健康リスクの評価と危害防止のための分析法整備を行うと共に、これら物質の食品中濃度実態調査を実施している。さらに、食品中の有害物質の検査に必要なサンプリング法の性能とハーモナイゼーションに係わる研究、不確かさ推定法に係わる研究を含めた分析値の信頼性保証に関する研究、有害試薬を用いる既存の公定分析法の見直しに係わる研究、照射食品の検知法の開発研究、食品からのダイオキシン等の有害化学物質の摂取量推定研究を実施している。さらに、平成23年3月には、福島第一原発事故による食品の放射性物質汚染に対応する業務が発生した。

渡邊敬浩室長は2010 Joint Statistical Meetingsで研究成果を発表するため、バンクーバー(カナダ)に出張した(平成22年7月31~8月5日)。坂井隆敏主任研究官(平成22年8月29~9月3日)は第19回コーデックス委員会残留動物用医薬品部会に出席するため、バーモント州(米国)に出張した。堤智昭室長はダイオキシン国際会議2010で研究成果を発表するため、サンアントニオ(アメリカ)に出張した(平成22年9月12~18日)。松田りえ子部長及び渡邊敬浩室長は第32回コーデックス分析法サンプリング部会に出席するため、プダペスト(ハンガリー)に出張した(平成23年3月4日~13日)。

平成22年10月1日付けで菊地博之研究員が採用された。平成22年8月1日付で、食品部研究員の育児休業に伴う任期付職員として箕川 剛研究員が採用された(任期平成23年5月31日まで)。

## 業務成績

1. 畜水産中の殺鼠剤プロディファコウム及びワルファリンのLC-MS/MSを用いた高感度分析法を開発した(食品等試験検査費, 厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課)。
2. 畜水産物中のジノセブ等13農薬等の個別試験法, 農産物中の2,6-ジフルオロ安息香酸及びプロベナゾールの個別試験法の検討開発を実施した(食品等試験検査費, 厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課)。
3. 高極性～低極性までの幅広い農薬等を対象とした畜水産物中の残留農薬等新規一斉試験法の検討開発を行った。(食品等試験検査費, 厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課)。
4. 通知試験法「GC-MSによる農薬等の一斉試験法(農産物)」及び「LC-MSによる農薬等の一斉試験法(農産物)」の妥当性評価試験を実施した(食品等試験検査費, 厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課)。
5. フェリムゾン試験法(水産物)等8試験法の評価及び追加検討を実施した(食品等試験検査費, 厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課)。
6. ヒドロコルチゾン試験法(畜水産物)を開発し, 国産豚及び鶏の可食組織(筋肉, 脂肪, 肝臓, 腎臓等)各50検体中のヒドロコルチゾン濃度の実態調査を行った(食品等試験検査費, 厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課)。
7. 通知のエンロフロキサシン等試験法を改良し, 分析対象化合物としてマルボフロキサシンを追加した畜水産物中のキノロン系合成抗菌物質12化合物の試験法を開発した。(食品等試験検査費, 厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課)。
8. 加工食品を対象とした農薬等の試験法開発を実施した。
  - 1) 迅速・簡便な加工食品中の農薬等の一斉試験法(スクリーニング法)の種々の加工食品に対する適用性を, 埼玉県衛生研究所及び東京都健康安全研究センターと協力して検証した。2) 残留基準への適合性を確認することができる試験法開発を目的として, 通知のHPLCによる動物用医薬品等の一斉試験法Ⅰ(畜水産物), HPLCによる動物用医薬品等の一斉試験法Ⅱ(畜水産物)[脂肪の方法]及びHPLCによる動物用医薬品等の一斉試験法Ⅲ(畜水産物)の加工食品へ

の適用性検証試験を実施した。3) 残留基準への適合性確認を目的とした, 新規な加工食品中の残留農薬等一斉試験法の検討開発を愛知県衛生研究所と協力して実施した(食品等試験検査費, 厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課)。

9. 清涼飲料水成分規格項目のうち, 不検出基準が設定されている鉛, カドミウム, ヒ素の同時分析法を確立した(食品等試験検査費, 厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課)。
10. ナチュラルミネラルウォーターの成分規格設定に伴う分析法とその性能基準の設定を目的とする基礎的検討を実施した(食品等試験検査費, 厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課)。
11. 鉛摂取量推定に及ぼす分析試料調製方法の影響について詳細に検討した(食品等試験検査費, 厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課)。
12. 植物性食品に由来すると推測される原因不明食中毒病原因質について調査した(食品等試験検査費, 厚生労働省医薬食品局食品安全部食中毒被害情報管理室)。
13. 豆類中のシアン化合物を分析する方法としてピリジンカルボン酸・ピラズロン法の分析性能を評価し規格試験法として採用することの妥当性を確認した。(食品等試験検査費, 厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課)。
14. 放射性照射食品の検知法である熱ルミネッセンス法におけるX線の標準照射としての利用を検討した。また, アルキルシクロブタノン法の適用拡大及び振とう抽出法の導入を評価した。(食品等試験検査費, 厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課)。
15. 魚及びそれらの加工品に含まれるヒスタミンを分析するための蛍光誘導体化HPLC法を開発した。規格試験法として採用するための妥当性を確認した。(食品等試験検査費, 厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課)。

## 研究業績

1. 食品中残留農薬等のスクリーニング分析法の開発に関する研究(厚生労働科学研究費補助金, 食品の安心・安全確保推進研究事業)
  - 1) 農産物中の残留農薬の迅速で効率的なスクリーニング分析法開発の一環として, 測定における効率化を図るため, LC-TOFMS法の残留農薬分析への適用について検討し, 食品マトリックスの影響を受けにくい測定条件を求めるとともにフラグメントイオンを用いた確認方法について検討した。
  - 2) 畜水産物中の動物用医薬品及び農薬の包括的なスク

リーニング分析法の開発を目的として、可能な限り多くの動物用医薬品及び農薬に適用可能な抽出方法及び脱脂精製方法について検討した。

## 2. 食品の規格基準に係る測定値に伴う不確かさに関する研究（厚生労働科学研究費補助金、食品の安心・安全確保推進研究事業）

1) 特定原材料を対象としたELISA法の不確かさ要因の解析及び、不確かさの推定を試みた。試料のモデル加工食品（畜肉ソーセージ）を単一試験室内で繰り返し分析し、得られた結果から測定値の不確かさを推定した。2社のELISAキットを用い、主要な不確かさ要因と予測された抽出時間の影響を明らかにするための条件設定を含めた。この結果、1) 卵を対象とする場合には、抽出時間が測定値間の有意差を生じること、2) 吸光度および測定値のばらつきが大きさが2キット間で明確に異なること、3) 不適切な検量線の作成が測定値にバイアスを生じていることが明らかとなった。キットと分析対象タンパク質との全組み合わせを通じ、測定値の標準不確かさ（RSD%）は5.5～19.8%と推定された。

2) 検量線による濃度推定に伴う不確かさの評価を取り上げ、全体の不確かさへの寄与、検量線に伴う不確かさの軽減について考察した。吸光度法、ICP-MS法、HPLCによる分析において、検量線の存在範囲を正しく予想することが可能であり、これから検量線による濃度逆推定に伴う不確かさを推定した。検量線に起因する不確かさが、分析全体の不確かさの30%程度の大きさとなる場合も見られた。

## 3. 食品を介したダイオキシン類等有害物質摂取量の評価とその手法開発に関する研究（厚生労働科学研究費補助金、食品の安心・安全確保推進研究事業）

1) 国内に流通している食品に含まれる汚染物質の量と、摂食によるそれらの摂取量を明らかにすることを目的に、11機関の協力を得て、マーケットバスケット方式による摂取量調査を実施した。その結果、有機塩素系農薬類、PCBs、マラチオン、MEP、ダイアジノン、1977年の調査開始当初に比べ摂取量が大きく低下していることが明らかとなった。定量結果が得られる試料数が激減したため、摂取量推定におけるNDとなった結果の取り扱いにより、推定値が大きく乖離する状況となった。

鉛、カドミウム、ヒ素、水銀、銅、マンガン、亜鉛の摂取量には大きな変化は見られず、定量結果が得られる試料の割合も高い。鉛、カドミウムはPTWIあるいはTWIに対する摂取量の比率も大きく、今後も監視が必要である。水銀はメチル水銀としてTWIが設定されているため、安全性を評価するためにはメチ

ル水銀としての摂取量推定値が必要である。無機ヒ素としてPTWIが設定されているヒ素の評価においても同様に、無機ヒ素の摂取量推定が必要である。

2) 8機関の協力を得て、マーケットバスケット方式によりダイオキシン類(PCDD/PCDFs及びCo-PCBs)の国民平均1日摂取量を求めた。平均1日摂取量は0.81pgTEQ/kg bw/dayと推定された。

3) 鮮魚(15試料)及び魚加工品(25試料)、並びに魚介類を含む弁当試料(30試料)中のダイオキシン類濃度を調査した。鮮魚及び魚加工品のダイオキシン類濃度は0～8.6pg TEQ/g、弁当類のダイオキシン類濃度は0.0073～3.3pg TEQ/gであった。弁当1食を食した場合のダイオキシン類摂取量は、30試料中26試料でTDIの半分以下であった。焼き魚弁当の1試料のみでTDIを上回るダイオキシン類摂取量が得られた。

4) 摂取量推定値の信頼性向上のため、毒性の強いメチル水銀の選択的な定量分析法の開発を検討した。検討した分析法の性能を、魚類を基材とした認証標準試料により評価した結果、真度は98～108%、室内精度(RSD%)は10.0～14.9%であった。

5) 全国の衛生研究所の食品中の有害化学物質検査データを収集し、データベースを作成した。摂取量調査の新たな調査対象を選択するため、データベース内容を解析し、検出率が増加している農薬等を明らかにし、摂取量調査すべき化学物質として選定した。

6) 食品中の芳香族炭化水素(PAHs)を分析するためのGC-MS/MS分析条件の予備検討を行った。欧州食品科学委員会及び食品添加物専門家会議がモニタリングを推薦するPAHs16種について、GC注入口温度及びイオン源温度を検討し、良好なピーク形状と面積値が得られる条件を設定した。

7) ダイオキシン類のスクリーニング法である高感度CALUXアッセイの魚試料に対する適用性を評価した。魚試料からの添加回収率は61～107%でありスクリーニング法としては適切であった。7検体の魚試料に対して本法と従来法(HRGC/HRMS分析)を比較すると、PCDD/Fs及びCo-PCBsの両分画で良好な相関係数( $r > 0.93$ )が得られた。本法は従来法の数分の一の時間及び費用で魚中のダイオキシン類濃度の把握が可能であり、スクリーニング法として有用であると考えられた。

## 4. 検査におけるサンプリング計画並びに手順のハーモナイゼーションに関する研究（厚生労働科学研究費補助金、食品の安心・安全確保推進研究事業）

1) サンプリング計画ならびに手順のハーモナイゼーションの前提となる「検査」という行為あるいはそれを表す用語について、食品衛生法第28条を中心に整理、

明確化することを通じ、法に定められた取去を通じて実行可能な行為について考察した。

- 2) 全く性質の異なる2つの母集団（製造工程の管理された食肉加工品中の食品添加物と汚染穀類中のデオキシニバレノール）の母分散の推定とサンプリングの不確かさの推定を試みた。食肉加工品中の食品添加物のサンプリングの不確かさは、サンプルサイズが3の場合でも7.4~7.6% (RSD) と推定され、正しく製造管理されている加工食品については、小さなサンプルサイズでも十分な確度で判定可能な分析結果が得られることが示唆された。穀類中のデオキシニバレノール濃度のサンプリングの不確かさは、サンプルサイズが3の場合11.8~20.0%と推定されたが、正確な推定には母集団の分布型を考慮することが必要であると考察された。
- 3) 米国連邦規則集、EU規則、厚生労働省のモニタリング計画を含む複数のサンプリング計画を対象に、サンプルサイズとロットサイズの関係についてその比例関係について関数近似を行い、関数型とその係数を推定した。多くのサンプリング計画においてべき乗関数が、もっとも当てはまりが良かった。べき乗関数に実際の値を当てはめた結果、べき数が約0.5の場合に、実際のロットサイズとサンプルサイズの関係に近い曲線が得られることが多いことが明らかとなった。
- 4) 2つの分布を含むコンサインメントからの非ランダムサンプリングのシミュレーションを行った。コンサインメント内の濃度分布が均一であれば、ランダムではないサンプリングでも、ランダムサンプリングと同じ結果が得られた。複数の濃度分布が局在しているようなコンサインメントから非ランダムサンプリングをした場合は、サンプル数を増加させても、サンプル平均値の標準偏差及び判定を誤る確率も減少せず、検査の信頼性が向上しなかった。以上の結果より、不均一な分布からのサンプリングではランダム性が重要であることが明らかとなった。

## 食品添加物部

部長 穠 山 浩  
前部長 河 村 葉 子

### 概 要

当部では、食品添加物（指定添加物、既存添加物、一般飲食物添加物、天然香料）、未許可添加物、器具・容器包装、玩具、洗浄剤等の規格基準の策定や試験法の開発、成分や溶出物の解明、一日摂取量調査、製品のモニ

タリング等に関する試験や研究を行っている。

平成22年度は国際的に安全と認められ広く使用されている未指定添加物の国主導による指定化として、ステアロイル乳酸ナトリウム、ソルビン酸カルシウム、L-グルタミン酸アンモニウム、ケイ酸マグネシウム等20品目が新規に指定された。また、食品添加物公定書の一層の充実を図るため、第9版の改定に向けた検討を進めている。一方、器具・容器包装の安全性確保のための新しい規制のあり方についても検討が行われた。

人事面では、平成23年2月1日付けで平原嘉親第三室長が近畿厚生局に異動し、六鹿元雄主任研究官が第三室長に昇任した。また、平成23年3月22日付けで第一室研究員として野口秋雄博士が採用された。さらに、当部の部長を2年間勤めた河村葉子部長は平成23年3月31日付けで定年退官し、後任には平成23年4月1日付けで穠山浩代謝生化学部第二室長が昇任した。

海外出張としては、河村葉子部長がFAO/WHO 合同食品添加物専門家委員会第73回会議に出席のためスイス・ジュネーブ（平成22年6月8日~17日）に出張した。また、佐藤恭子第一室長がFAO/WHO 合同食品規格計画第43回食品添加物部会に出席のため中国・廈門（平成23年3月10日~19日）に出張した。

### 業務成績

- (1) 第9版食品添加物公定書策定のため、第9版食品添加物公定書原案作成要領、通則、試薬、増粘安定剤の微生物限度試験法の検討を行った（食品等試験検査費）。
- (2) 食品中の食品添加物分析法の設定のため、食用油脂中のケイ酸マグネシウムの分析法（平成22年10月20日食安基発1020第4号厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課長通知『「食品中の食品添加物分析法」の改正について』により、ケイ酸マグネシウム分析法が追加された）、ワイン中のナタマイシンの分析法（平成22年10月7日食安基発1007第1号厚生労働省医薬食品局食品安全部基準審査課長通知『「食品中の食品添加物分析法」の改正について』でナタマイシン分析法が改正された）、生鮮食品中の次亜塩素酸ナトリウムの分析法の検討を行った（食品等試験検査費）。
- (3) 未指定添加物等対策として、食品中の塩基性タール色素試験法の検討を行った（食品等試験検査費）。
- (4) 国際的に汎用されている添加物等の指定に向けた調査研究等として、ピロリジン、2,6-ジメチルピリジン等につき規格基準案を策定した（食品等試験検査費）。
- (5) 食品添加物一日摂取量調査では、地方衛生研究所6機関の協力により、甘味料、保存料、着色料等の摂取

- 量について、食品摂取量データ（平成16年、17、18年の国民健康・栄養調査データ）を基に、成人（20歳以上）の喫食量に基づいたマーケットバスケット方式による一日摂取量調査等を実施した（食品等試験検査費）。
- (6) 食品添加物の規格基準の設定に関する試験では、食用青色1号、食用青色2号、食用緑色3号、食用赤色3号の純度試験（副成色素、未反応原料、反応中間体等）の試験法について検討し、食用タール色素及びアルミニウムレーキの鉛試験法について検証するとともに、希釈過酸化ベンゾイルの規格改正のための検討を行った（食品等試験検査費）。
- (7) 既存添加物2品目の安全性試験（反復経口投与毒性試験）と連携して、動物餌に混合した試験試料の含有量を測定した（食品等試験検査費）。
- (8) カゼインの成分規格の純度試験脂肪の現行試験法をCODEX規格試験法に基づいた操作法に変更する試験法改正を検討した（食品等試験検査費）。
- (9) 合成樹脂製器具・容器包装に使用される添加剤のうち、可塑剤、発泡剤、難燃剤及び界面活性剤について、一斉分析法開発のためGC/MSデータベースを構築した（食品等試験検査費）。
- (10) 個別規格未設定の合成樹脂であるABS樹脂、AS樹脂、ポリアクリロニトリル及びポリブタジエンについて、それら原料モノマーの規格に関する調査を行った（食品等試験検査費）。
- (11) ポリスチレン製容器包装におけるスチレン、エチルベンゼン等の揮発性物質の残存量とそれらの食品への移行量について調査した（食品等試験検査費）。

## 研究業績

### 1. 食品添加物に関する研究

- (1) 食品添加物と食品成分との複合作用による副生成物の解明  
各種生鮮食品の次亜塩素酸ナトリウムによる殺菌処理で生成するトリハロメタン類をダイナミックヘッドスペース-GC/MSを用いて分析し、暴露量を推定した（厚生労働科学研究費補助金）。
- (2) NMRを用いた食品添加物定量法の開発  
定量NMR法（qNMR法）について標準物質（アスコルビン酸等）の定量分析への適用を検討し、適用性及び有効性が確認された（厚生労働科学研究費補助金）。
- (3) 食品添加物の規格基準向上のための赤外スペクトルに関する調査研究  
ネオテームについて、従来の測定（透過）法とATR（反射）法とを比較し、ATR法で得られたIRは
- 透過法によるIRとは異なることを明らかにした（厚生労働科学研究費補助金）。
- (4) 食品添加物の規格の向上及び使用実態に関する研究  
アルギン酸類のより簡便で精度の高い安全な定量法の開発のため、標準物質となるマンヌロン酸及びグルロン酸の単離精製を行った（厚生労働科学研究費補助金）。
- (5) NMRを用いた食品中の食品添加物分析法の開発に関する研究  
食品中の食品添加物分析法の効率化、精度向上を目指して、簡便性、迅速性、環境負荷の低減に優れた定量NMR法を用いた食品中のソルビン酸分析法の確立に関する検討を行った（厚生労働科学研究費補助金）。
- (6) 第9版食品添加物公定書新規収載既存添加物候補14品目の成分規格を検討し、規格草案を作成した（食品等試験検査費）。
- (7) 既存添加物の有効性と品質を確保するための規格試験法の開発  
ステビア抽出物の規格試験に使用する定量用試薬の絶対純度を定量NMR法を用いて測定した。既存添加物トウガラシ水性抽出物の含有成分の分析方法を検討し、この方法を用いて製品の基原を考察した。 $\alpha$ -アミラーゼ製品をモデルにして、食品用酵素をプロテアーゼで消化して生成するペプチドをHPLC分析することで、菌株の異なる酵素製品の識別に有用な情報が得られる可能性を示した（厚生労働科学研究費補助金）。
- (8) 既存添加物中の有害活性成分の解明に関する研究  
カカオ色素のマイコトキシン分析と変異原性試験を行った。近年安全性試験が行われ、発がんプロモーション活性を示すおそれのある所見が認められた既存添加物1品目の発がんプロモーション活性成分を探索した（食品等試験検査費）。

### 2. 器具・容器包装等に関する研究

- (1) 合成樹脂製器具・容器包装の安全性向上に関する研究  
合成樹脂製器具・容器包装の蒸発残留物規格における食品分類の定義、蒸発残留物試験の溶出溶媒、試験溶液の調製法、溶出量の表記等の検討を行った（厚生労働科学研究費補助金）。
- (2) ゴム製器具・容器包装の安全性向上に関する研究  
シリコンゴム製品中のカドミウム及び鉛試験法を改良し、市販製品を用いた実態調査を行った（厚生労働科学研究費補助金）。
- (3) ラミネートフィルム中のイソシアネート類及びアミン類の分析

ラミネートフィルムの接着剤として使用されるイソシアネート類及びその分解物であるアミン類の分析法を確立し、残存量及び溶出量を分析した(厚生労働科学研究費補助金)。

(4) 電子レンジ及びオープン用調理器具の分析調査

電子レンジ及びオープン用調理器具に残存する様々な化学物質を同定し、残存量及び溶出量を分析した(食品等試験検査費)。

(5) DART-TOF/MSによるフタル酸エステルのスクリーニング

DART-TOF/MSを用いたポリ塩化ビニル製玩具中のフタル酸エステル類のスクリーニング法について、その有用性を検証した(厚生労働科学研究費補助金)。

## 食品衛生管理部

部長 山本茂貴

### 概要

当部は食品等の製造工程における微生物及び有害物質の制御、安全性評価、規格基準その他の食品等の衛生管理に関する調査及び研究並びに食中毒に関連する微生物の試験及び検査並びにこれらに必要な研究を行っている。

平成22年度は、調査研究として1)食中毒菌に関する基礎的研究、2)食品の微生物学的リスク評価に関する研究、3)食品製造の高度衛生管理に関する研究、4)遺伝子組換え微生物の安全性に関する研究、5)貝毒検査における精度管理に関する研究、6)食品のバイオテロに関する研究を進展させた。業務関連ではノロウイルスの不活化条件に関する調査を行った。また、保健医療科学院において開催された食肉衛生検査研修、食品衛生危機管理研修、食品衛生監視指導研修において山本茂貴部長、五十君静信第1室長、町井研第2室長が副主任を務めコースの運営に参加した。前記3名に加え春日第3室長、野田第4室長も講義を担当した。

人事面では、7月1日付けで第3室に百瀬愛佳研究員、11月1日付けで第4室に上間 匡研究員が採用された。非常勤職員としてエトガ路子氏、江川智哉氏、派遣職員として富田 理氏を採用した。協力研究員として北村 勝博士、呉 銀倞博士を、流動研究員として梶川揚申博士、門田修子博士、ナタリア・ゴメツトメ博士を受け入れた。その他に大学から研究生5名、実習生5名を受け入れた。

海外出張では、山本茂貴部長は、2010.8.26-8.31、

2011.2.27-3.3にベトナム・ハノイのハノイ農業大学で輸入食品の安全性に関する研究打ち合わせ会議、引き続きタイ・バンコクに移動し公衆衛生研究所で食品由来腸管感染症のデータを収集した。また、2010.10.30-11.7に米国・ワシントン州シアトルで開催された第45回UJNR日米合同会議有毒微生物部会、五十君室長、衛生微生物部小西良子部長、鎌田洋一第3室長と共に出席した。五十君静信室長は、2010.5.4-5.12にポルトガル・ポルト市で開催された第17回リステリア症に関する国際シンポジウムに岡田由美子主任研究官、門田修子流動研究員と共に参加し研究発表、2010.6.13-6.20にスロバキア・コシツェ市で開催された「国際プロバイオティクス・プレバイオティクス科学会議」に参加し研究発表を行った。2011.2.7-2.13に米国・ニューポートビーチで開催された第2回試験方法のグローバルハーモニゼーションに関する国際分析法会議に参加した。春日文子室長は、2010.5.9-5.16にイタリア・ローマ市で開催されたFAO/WHO合同食品微生物学的リスク評価専門家会議に出席、2010.7.13-7.19にチュニジア・チュニス市で開催されたWHOによる食品由来疾病疫学レファレンスグループ(FERG)腸管感染症並びに寄生虫病タスクフォース会議に出席、2010.8.1-8.6米国・アナハイム市で開催された国際食品保全学会 International Association for Food Protection (IAFP) 第96回年次会合に朝倉 宏主任研究官と共に参加、2010.10.11-10.24フランス・アヌシー市で開催された国際食品微生物規格委員会(ICMSF)年次会議出席及びイギリス・ノーウィッチ市の食品科学研究所で講演した。また、2010.11.7-11.14にスイス・ジュネーブ市で開催されたWHOによる食品由来疾病疫学レファレンスグループ(FERG)第4回全体会議に出席した。町井研室長と鈴木穂高主任研究官は、2010.10.30-11.7にギリシア・ヘルソニス市で開催された第14回 International Society for the Study of Harmful Algae (国際有害有毒藻類学会)に参加し発表した。鈴木穂高主任研究官は、2011.2.16-2.19フィリピン・セブ市で開催された第16回 FEDERATION OF ASIAN VETERINARY ASSOCIATIONS CONGRESS (アジア獣医師学会)に参加し、研究発表を行った。野田 衛室長は、2010.8.23-8.29韓国・釜山市の韓国国立水産科学院でノロウイルスやA型肝炎の現状について紹介し、釜慶大学でセミナーを行った。また、2010.11.29-12.3ウガンダ共和国・カンバラ市で開催された第42回コーデックス委員会食品衛生部会に出席した。

### 業務成績

食品等の調査として、ノロウイルスの不活化条件に関

する調査を厚生労働省医薬食品局食品安全部監視安全課の依頼により行い、ノロウイルスの不活化条件について種々の消毒剤等を用いて調べるとともに、文献を整理した。

## 研究業績

平成22年度は以下の研究を行った。

- (1) 食中毒菌に関する基礎的研究として、1. 食品における衛生管理手法及びその精度管理に関する研究では、食品からの食中毒起因細菌及び汚染指標菌の標準試験法を最終案にまとめた。2. 食品中の毒素産生食中毒細菌および毒素の直接試験法の研究では、ウエルシュ菌の毒素を食品から直接検出する方法の基礎的検討及び腸管毒性に対する毒素の役割を検討した。3. リステリアの増殖性に関する研究では、リステリアの定常期増殖 *rpoN* 遺伝子の役割について解析した。4. 薬剤耐性食中毒菌に係る解析技術の開発及びサーベイランスシステムの高度化に関する研究では、食品におけるESBLの汚染実態について調査し、これらの耐性菌の危害分析を行った。5. 食品中の病原ウイルスのリスク管理に関する研究では、地方衛生研究所等との協力の下、食品媒介ウイルスの診断法、食中毒検査体制の強化、食品の汚染実態調査、分子疫学的解析等を実施した。6. *Campylobacter jejuni* の鶏腸管定着機構に関する分子基盤の解明では、カンピロバクターが鶏腸管に定着する際に顕すタンパク・遺伝子発現の変動を解析した。7. *Campylobacter jejuni* の腸管上皮細胞との相互作用に関する研究、8. *Listeria monocytogenes* の酸抵抗性に関する研究、9. 食品中ウイルスの高感度迅速試験法およびマネジメント手法の標準化に関する研究を開始した。
- (2) 食品の微生物学的リスク評価に関する研究として、1. 食中毒調査の精度向上のための手法等に関する調査研究では、食品媒介感染経路の占める比率や原因食品を推定する疫学的手法、ならびに広域散发食中毒事例の効率的な調査体制について、協力自治体での症例対照研究等の実践により、新たな手法を開発した。2. 輸入食品の食中毒菌モニタリングプラン策定手法に関する研究では、輸入食品中の赤痢菌、腸管出血性大腸菌、腸炎ビブリオ、リステリア・モノサイトゲネスなどの海外及び輸入食品での汚染実態等を検討した。3. 定量的リスク評価の有効な実践と活用のための数理解析技術の開発に関する研究では、カンピロバクター並びにその他の食中毒のリスク評価の実践を通し、不確実性分析、感度分析、用量反応分析等の技術開発とともに、定性的リスク評価の適用について検討し、さらにリスク管理の数的指標設定の理論について

検討した。また、4. 冷凍食品の安全性確保のための微生物規格基準設定に関する研究、5. 腸管免疫系の発達とその役割に関する研究を開始した。

- (3) 食品製造の高度衛生管理に関する研究として、1. 食鳥・食肉処理工程等におけるリスク管理に関する研究を開始した。
- (4) 遺伝子組換え微生物の安全性に関する研究として、1. 遺伝子組換え食品に関する研究では、非意図的な遺伝子改変影響を検討すると共に、化学的処理による遺伝子変異と同等な育種を遺伝子組換え操作により再現し、遺伝子レベルでの検討を進めた。
- (5) 貝毒検査における精度管理に関する研究として、1. 貝毒におけるマウスへの試験液注射時間帯の違いによるマウスの感受性の差に関する研究では、標準毒素を用いて日周期と毒素接種時の血液生化学値の変化の関連について調査した。2. 検査機関の信頼性確保に関する研究では、外部精度管理試料に添加するオカダ酸(OA)の貝ホモジネート試料への効率良い、かつ有効な添加方法につき、その効果が確認できた。3. 麻痺性貝毒検査用精度管理試料作製にかかわる種々の問題点解決のための研究では、貝毒等の機器分析法及び簡易分析法のバリデーションに加えて、試料作成法を検討した。4. 貝毒の機器分析法及び簡易分析法のバリデーションに関する研究では、貝毒試験法のバリデーションに関連し、動物試験と機器分析の整合性について検討した。5. 下痢性貝毒のマウス・バイオアッセイの原理・機序の解明、および代替法の開発に関する研究では、マウスが下痢性貝毒を腹腔内に投与されてから死に至るまでのメカニズム、すなわち、下痢性貝毒のマウス・バイオアッセイの原理の一部を解明した。具体的には、通常毒素試験法のルート(腹腔内注射)での注射時のマウス死亡の転帰について精査を行った。
- (6) 食品のバイオテロに関する研究として、1. 食品防衛の具体的な対策の確立と実行可能性の検証に関する研究では、食品会社数社を例にして実行可能性を検討した。対策リストに沿って検討することで効率的に対策を強化できる部分と複雑すぎる箇所が明らかとなった。

## 衛生微生物部

部長 小西良子

## 概要

当部は食品部、食品添加物部、食品衛生管理部および

代謝生化学部とともに当研究所の食品部門に属し、微生物関連の食品の安全確保に係る試験・研究業務を行うとともに、医薬品、医薬部外品、医療用具、環境の分野の微生物も所管業務対象である。

食品微生物関連では、1) 原因不明食中毒の原因物質の究明、広域食中毒における共通原因食品および食中毒菌の究明およびそれに伴う食中毒原因究明のための食中毒菌検査法の開発ならびに地方衛生研究所への食中毒検査における技術支援、2) 真菌毒素の国際機関規格基準設定などの動向に適切に対応していくための科学的根拠を集積すると同時に、検査法および分析法の策定およびその評価のための妥当性試験等の実施、3) 食品真菌のリスク要因の解明および分子生物学手法を用いた新規分類法の開発ならびに地方衛生研究所への技術支援を行っている。

医薬品、医薬部外品、医療用具関連では、1) 日本薬局方微生物限度試験法策定のための科学的根拠の提供、2) エンドトキシン等微生物毒素の分析法の確立などの試験・研究業務を行っている。

環境微生物関連では主に真菌が対象であり、アレルギー誘発真菌のメカニズムの解明と予防法を目的として、調査・研究業務を行っている。

特に、近年増加傾向にある生食用食品を原因とする原因物質が不明の食中毒においてその原因究明を行い、新規の寄生虫性食中毒であることを明らかにし、予防対策を策定した。この発見は世界初であり、今年度の特筆すべき成果といえる。

今後も厚生行政に資する調査・研究調査を進めていくとともに、温暖化や食中毒の広域化等の問題に備えた先端的研究と同時に科学的根拠を明らかにする基礎的研究も行っていく。

人事面では、平成22年9月1日付けで鎌田洋一第二室室長が第三室室長に、工藤由起子第三室長が第二室室長に配置換となり、大西貴弘主任研究官が第四室室長に昇任した。さらに、平成23年1月1日付けで吉成知也博士を研究員として採用し、第四室に配属した。

客員研究員として高鳥浩介東京農大客員教授、小沼博隆東海大学海洋学部教授、三瀬勝利元(独)医薬品医療機器総合機構専門委員、熊谷進東京大学大学院農学生命科学研究科教授(平成22年12月28日付けで退所)、協力研究員として室井正志武蔵野大学薬学部准教授、伊藤嘉典マイコトキシン検査協会顧問(平成23年3月31日付けで退所)、角田正史北里大学医学部准教授、高橋治夫前千葉県衛生研究所首席研究員、久城真代(独)農業・食品産業技術総合研究機構主任研究員、遊佐精一中国国立常熟理工大学客員教授、研究生8名、実習生5名とともに、精力的に共同研究を進展させた。

海外出張は、以下の通りである。

小西良子部長は平成22年8月1日から6日までフードプロテクション会議に、工藤由起子第二室長とともに出席し、発表した。平成22年10月28日から29日まで、韓国食品衛生学会主催の国際シンポジウムに招かれ、招待講演を行った。同年10月31日から11月6日までは、米国シアトルで開かれた第45回 UJNR 日米合同会議有毒微生物部会に鎌田洋一第三室長とともに参加し、研究成果を発表した。同年11月30日から12月6日までは、マレーシア・ペナンで開催された International mycotoxin conference 2010に The international advisory committee member として招待され、keynote 講演を行った。その後タイ国カセサート大学を訪問した。また、杉山主任研究官も平成22年12月1日から4日まで、同学会に参加、発表を行った。

菊池第一室長は平成23年2月21日から26日まで米国ニューメキシコ州タオスで行われた Keystone Symposia on Molecular and Cellular Biology: Neurodegenerative Diseases に参加および経過発表を行った。

工藤由起子第二室長は、平成22年7月24日から31日まで米国食品医薬品局ガルフコースト水産食品研究所において共同研究を行った。平成22年11月7日から12日までミシシッピ州ピロキシーで開かれた Vibrio in the Environment 2010に招待講演として発表した。

鎌田第三室長は平成22年8月29日から9月5日までコペンハーゲンで開催された The 22nd International ICFMH Symposium, Food Micro 2010に出席し研究成果を発表した。

大西貴弘第四室長は平成22年12月1日から12月14日まで、米国医薬品食品局食品安全・応用栄養センターに米国における食中毒細菌のタイピング法の情報を収集するために、訪米した。

所外業務として、昨年と同様に小西部長は、国立保健医療科学院を併任し食品衛生に関する自治体職員の指導を担当し、小西部長、工藤第二室長、鎌田第三室長は同院の研修講師を務めた。

## 業務成績

以下の9課題を食品等試験検査費で行った。

1. 平成22年度食品・添加物規格基準に関する試験検査、食品中のかび毒に係る試験検査、水産食品中の腸炎ビブリオに係る試験検査：二枚貝中の tdh/trh 陽性腸炎ビブリオの汚染実態調査に適した試験法を開発し、汚染実態調査を行った。成果は FAO/WHO 腸炎ビブリオリスク評価手法の専門家会議に日本からの科学的データとして提出された(工藤、小西)。

2. 平成22年度食品・添加物規格基準に関する試験検査、食品中のかび毒に係る試験検査：粉ミルク中のアフラトキシン M1の分析法の開発および汚染実態調査ならびに文献収集を行い、食品安全委員会に評価資料として提出した（大西，鎌田，小西）。

3. 平成22年度食品長期監視事業，生食用生鮮食品を共通食とする原因不明食中毒病因物質調査：ヒラメおよび馬刺しを対象に，新規原因物質と推察される寄生虫の毒性評価系を実験動物および培養細胞系で確立し，予防対策の検討を行った。これらの成果は厚労省から発出される提言（ガイドライン）の科学的根拠となった（菊池，杉山，鎌田，大西，小西）。

4. 日本薬局方微生物限度試験法に係る研究，「遺伝子解析による微生物の迅速同定法」の検出感度向上に関する研究：医薬品の製造工程管理試験や出荷判定試験において検出される微生物の16S rRNA 遺伝子を解析して同定する第十六改正日本薬局方参考情報「遺伝子解析による微生物の迅速同定法」の適用拡大を目的とし，検出感度向上に関する研究を行った。細菌の16S rRNA 全長約1540bp を10F/1500プライマーセットを用いたPCRで増幅し，10F プライマーで配列解析を行い，同定不良の際は1500R プライマーで解析を行うことが迅速化に繋がると結論した（菊池，宮原，小西）。

5. 平成22年度カビ毒同時試験法開発事業，総アフラトキシン迅速試験法の検討：（小西，大西，吉成）

平成23年10月からの規格改正に伴って，トウモロコシ中の総アフラトキシンの迅速試験法の見直しを行った。

6. 平成22年度食品・添加物規格基準に関する試験検査等の実施について，食品中のかび毒に係る試験検査（フモニシン）：（小西，大西，吉成，西川，梅村，日比，石井）

食品中のカビ毒の中でも，わが国ではまだ規格基準のないフモニシンに関してその実態調査を行った。その結果ベビーフードを含むとうもろこし加工品には比較的高頻度にフモニシンが汚染されていることが明らかになり，今後もモニタリングを続ける必要性が示唆された。

7. 平成22年度食品・添加物規格基準に関する試験検査等の実施について，AcDON および DON の実態調査と毒性に関する試験研究：（小西，大西，吉成）

2010年のFAO/WHO 合同食品添加物専門家会議（JECFA）で評価されたアセチル化DONの我が国における実態調査を輸入小麦および大麦を対象に行った。さらに15-アセチル化DONの毒性をブタを用いた体内動態試験およびヒト腸管上皮細胞による透過性

実験を行い，バイオアベイラビリティを明らかにした。

8. 平成22年度食品・添加物規格基準に関する試験検査等の実施について，食品中のかび毒に係る試験検査（食用とうもろこし中のDONの汚染実態調査）：（小西，大西，吉成）

2010年のFAO/WHO 合同食品添加物専門家会議（JECFA）で評価されたアセチル化DONの我が国における実態調査をとうもろこしおよびその加工品を対象に行った。また，分析法の検討を行った。

9. 平成22年度食中毒菌分離株の血清型及び保管にかんする調査事業の実施について，食中毒菌分離株の血清型及び保管に関する調査事業：（小西，工藤，鎌田，大西）

各自治体19機関に協力を依頼している食中毒菌実態調査で食品から分離されたサルモネラ，腸管出血性大腸菌 O157，O26，カンピロバクターを集約し，その血清型を判定するとともに，適切な保管方法を検討した。

10. その他

食品安全委員会専門委員として，カビ毒・自然毒部会専門委員として，デオキシニバレノールおよびニバレノールの評価書の作成に参画した（小西）。

薬事・食品衛生審議会委員，農林水産省農業資材審議会委員，農林水産消費技術センター食品安全管理システム（ISO/TC34WG8）専門分科会において，試験法評価，規格基準審査等に関わる専門協議に従事した（小西，鎌田，菊池）。

日本薬局方部会生物試験法委員および独立行政法人医薬品医療機器総合機構専門委員として，試験法改正作業，国際調和作業，対外診断薬の承認審査等に関わる専門協議に従事した（菊池）。JICA 派遣研修生を対象にマイコトキシン技術講習を行った（菊池，小西，杉山，渡辺）。

## 研究業績

### 1. 医薬品の衛生微生物に関する研究

(1) TLR シグナル抑制分子群の機能解析および敗血症治療薬への応用に関する研究（科学研究費補助金（文部科学省））

ペプチドであるSTM28とかび毒の1種であるトリコセシン系かび毒のTLRシグナル伝達系に対する阻害機序の検討を行った。

(2) 遺伝子組換え医薬品等のプリオン安全性確保のための検出法及びプリオン除去工程評価に関する研究（医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）

異常プリオン蛋白質形成の初期段階に、ヒトプリオン蛋白質のN端側43残基のセリン(S43)がリン酸化S43(pS43)に変化することから、pS43を含む周辺のアミノ酸配列を基にペプチド抗原を合成し、マウスを免疫して特異的に認識する抗体の調製を試みた。免疫したマウスから調製した抗血清はイムノプロット法で特異的に異常プリオン蛋白質を認識し、糖鎖2本を有するPrPに相当するバンドを示した。しかし、マウス脾細胞を用いた細胞融合を行ったが、特異抗体を産生するクローンは樹立できなかった。

- (3) GPIアンカー欠損スプライス変異型プリオン蛋白質発現解析のプリオン病診断への応用(科学研究費補助金(文部科学省))

プリオン病の診断法確立に資する研究として、その発症とスプライス変異型プリオン蛋白質(PrPSV)の関連を解明することを目的とし、ヒツジ脳由来細胞株OA1でPrPSV mRNAを解析し、既にmRNAの発現および蛋白質の産生を確認しているヒトの選択的スプライシング部位に相当する配列の近傍に新たなイントロンを検出し、ヒツジPrPSV mRNAを同定した。次に、ヒツジPrPSV mRNAの発現量を測定するため、エクソン・エクソン・ジャンクションに結合するプライマーを設計してリアルタイム定量PCRを構築した。

## 2. 生物ゲノムの分子生物学的研究

- (1) 原核生物の反復配列の転写機構に関する研究(一般試験研究費)

真核生物の反復配列の転写機構と比較した。特に転写因子のDNA上の結合部位について詳細に解析を行い、両反復配列でDNAがコンフォメーション変化を起こしている可能性が示された。

## 3. 真菌の生態および制御に関する研究

- (1) 医薬品、食品にみる真菌の分布・汚染に関する研究(一般試験研究費)

医薬品、食品から分離される真菌の特性を研究した。

- (2) 食品から分離される真菌のDNA塩基配列による同定法に関する研究(一般試験研究費)

カビDNAを用いた塩化セシウム密度勾配法によるDNAの精製およびマイクロプレートでのDNA-DNAハイブリダイゼーションの実験系を確立した。この系を用いて近縁な*Fusarium*属菌でのDNA-DNAハイブリダイゼーションを行い、全ゲノムレベルの塩基配列相同率を推定した。

- (3) 真菌の保存法に関する研究(一般試験研究費)

従来からの第三室保存株TSY株および国産果実由来株NS株の保存・性状確認を行った。現在TSY株

約740株、NS株約234株を保有している。

- (4) 清涼飲料水中の汚染原因物質に関する研究(厚生労働科学研究費補助金)

清涼飲料水中での細菌および真菌の増殖によって飲料水に関する苦情と同様の現象が再現された。また、毒素産生が認められ健康被害の発生が示唆され、開封後の速やかな飲料水の消費が重要であることが示された。

## 4. 食品微生物に関する研究

- (1) 食品の規格基準に係る測定値に伴う不確かさに関する研究(厚生労働科学研究費補助金)

大腸菌を単一に含む試料では、大腸菌群数の測定値に伴う不確かさは一般細菌数の拡張不確かさと同等の値であったが、不特定多数の細菌を含む試料について大腸菌群数の測定値推定の拡張不確かさは、一般細菌数の不確かさの約4倍大きな値となった。

## 5. 真菌産生毒素に関する研究

- (1) カビ毒およびきのこ毒の発生要因を考慮に入れたりスク評価方法の開発(内閣府食品健康影響評価技術研究)

米に汚染するカビ毒数種を対象に、その一斉分析法と確率、毒性および我が国の米の摂取量を基にした推定暴露量を研究するものであり、いままでにアフラトキシンに着手している。

- (2) 食品汚染カビ毒の実態調査ならびに生体毒性影響に関する研究(厚生労働科学研究費補助金)

穀類を汚染する主要カビ毒のうち、T-2トキシン(HT-2トキシン)、ゼアラレノン、シトリニンに着目し、わが国に流通する食品中の汚染実態を調査し、暴露評価のデータに資するものである。

- (3) かび毒の毒性評価法およびデトキシケーションに関する研究(厚生労働科学研究費補助金)

乳幼児にも摂取される可能性あるアフラトキシンM1、ゼアラレノン、デオキシニバレノール、ニバレノール、T-2およびHT-2 toxinの計6種類のかび毒について、自然免疫系への影響を指標にそれら毒性の評価を試みた。

## 6. 細菌毒素に関する研究

- (1) 食品中の毒素産生食中毒細菌および毒素の直接試験法の研究(厚生労働科学研究費補助金)

セレウス菌、ブドウ球菌およびウエルシュ菌と、それら細菌が産生する毒素について、食品中から直接検出する方法を開発するとともに、食中毒細菌毒素と食中毒についての基礎研究を行った。

## 7. 原因不明食中毒に関する研究

- (1) 生鮮食品を共通食とする原因不明食中毒に対する食品衛生上の予防対策(厚生労働科学研究費補助金特別

研究)

近年増加している生鮮魚介類および生鮮食肉を喫食することによる食中毒（有症事例）の原因を、疫学、毒性学、分析化学の分野から検討し、原因物質の一つについて推定し、試験法も開発した。

## 有機化学部

部 長 奥 田 晴 宏

### 概 要

有機化学部では医薬品等の各種化学物質の有効性及び安全性に関する有機化学的試験及び研究を行うとともに、生理活性物質の合成、構造と機能、反応性、構造活性相関並びに生体分子との相互作用に関する有機化学的研究を実施している。

当部は、厚生労働省所管の研究所の中で唯一の有機化学を研究分野としている部である。有機化学は極めて広い研究分野であるが、その中核は、生体を構成する基本的なユニットである炭素-炭素結合を有する物質の特性あるいはその作用を分子レベルで理解し・記述する研究分野であると解釈される。当部ではその中で、特に生体に影響を与えうる化学物質に焦点を当て、有機化学的研究を実施することが中心的な課題である。

当研究所の中では機能生化学部及び代謝生化学部とともに「基礎支援」と位置づけられ、他の研究部門と共同し、本所の業務を有機化学的な立場から支援している。比較的最近では、行政支援的な性格の強い業務としては、アガリスクの安全性評価のためにアガリチンの大量合成法の確立等の業務や計算機を用いた違法ドラッグの活性予測等の業務をそれぞれ変異遺伝部や生薬部と実施した。

平成22年度は基礎研究分野においても共同研究を広げ、機能生化学部と共同で新たなメディスナルケミストリーに着手した。さらに、医薬安全科学部が研究代表を務める基盤研プロジェクト「メタボローム情報に基づく創薬標的の網羅的探索に関する研究」に加わり、メタボローム研究に本格的に参入するなど、共同研究を拡大し、新しい研究テーマに取り組む年となった。

さらに、正田主任研究員は、平成23年1月より米国イェール大学 David A. Spiegel 博士の研究室に1年間の予定で留学し、「免疫機能を利用した小分子 HIV 治療薬の開発」研究に従事している。正田主任研究員の活躍に期待したい。

本年度は業務あるいは研究業績欄に記載したように多くの成果を挙げることが出来た。

平成22年度の研究業務として1) 有用生理活性物質の合成及び化学反応性に関する研究、2) 有害物質の構造決定と毒性評価に関する有機化学的研究、3) 薬物と生体分子の相互作用に関する研究、4) 医薬品の品質確保に関する研究などを行った。これらのテーマに関連して、「コンピュータシミュレーションによる化学物質の有害性予測の迅速化・高度化に関する研究（厚生労働省）」、「人工ペプチドによる核内レセプターアンタゴニストの創製（文部科学省）」、「ノンセコステロイド型ビタミンD受容体リガンドの創製（倉田財団）」および「がん細胞に対して選択的にマクロファージ誘導作用を持つ新規がん治療薬の開発（文部科学省）」が、当部研究者を研究代表者として本年度から新たに研究費を獲得し、スタートした。

研究員の受け入れに関しては、昨年度に引き続き宮田直樹博士（名古屋市立大学薬学部教授、前当研究所有機化学部長）、末吉祥子博士及び丹野雅幸博士に客員研究員として研究に参画していただいた。新たに吉川敏一博士（京都府立医科大学学長）にも客員研究員として参画いただいた。

協力研究員として西尾俊幸博士（日本大学生物資源科学部准教授）、田中直子博士（大妻女子大学家政学部教授）が引き続きNMRを利用した研究に従事された。また中西郁夫博士（放射線医学総合研究所研究員）及び治京玉記博士（中村学園講師）がそれぞれ抗酸化剤の有効性と安全性に関する研究及びペプチド化学に関する研究に従事された。貝沼（岡本）章子博士（東京農業大学応用生物科学部准教授）は、協力研究員としてリンのNMRを用いた生体機能解明のための研究を実施している。西川可穂子博士（防衛医科大学校助教）は遺伝子細胞医薬部と共同でプロテオミクスに関する研究に従事された。

短期海外出張は以下の通りである。

国際会議のための外国出張としては、奥田が平成22年6月13日～17日にタリン（エストニア）で開催された日米EU医薬品規制調和専門家会議（ICH）に出席し、「原薬の開発と製造」に関するガイドライン作成に協力した。また、奥田はWHOの臨時委員としてジュネーブ（スイス）で開催された第50回（平成22年5月18日～20日）、第51回（平成22年11月16日～19日）国際一般名称（INN）専門家会議に出席し、INNの策定作業に従事した。また、平成22年7月27～28日にロックビル（米国）で開催された米国薬局方主催、公定書における命名に関する米国薬局方ワークショップに出席し、わが国の医薬品名称の現状を報告した。

国際学会発表のための外国出張としては、栗原室長および出水主任研究員が31st European Peptide Sympo-

sium (平成22年9月, デンマーク) に, 福原室長, 大野主任研究官は, 240th American Chemical Society National Meeting & Exposition (平成22年8月, 米国) に, 奥田, 福原室長, 大野主任研究官, 正田主任研究官および出水主任研究官は, PACIFICHEM2010 (平成22年12月, 米国) に, 研究発表のため出張した。

厚生労働省の共同利用型大型機器の管理に関しては, 高分解能核磁気共鳴装置 (バリアン400MHzNMR 及び高感度プローブ付600MHzNMR) の管理・運営を行った。

## 業務成績

当部職員は, 以下の活動を実施した。

日本薬局方の化学薬品に関して (独) 医薬品医療機器総合機構 (PMDA) 日本薬局方委員として, 各条規格の作成並びに収載品の化学名や構造式の決定作業を実施した。

薬事・食品衛生審議会薬事分科会の薬局方部会および化粧品・医薬部外品部会, 毒物劇物部会, 毒物劇物調査会の委員として活動に協力した。

国際協力としては, 医薬品規制国際調和活動 (ICH), WHO の医薬品国際一般名称策定事業に協力した。また, 国際厚生事業団 (JICWELS) 必須医薬品製造研究に協力して, アジア諸国の GMP 査察官に対して講義を実施した。

PMDA 専門協議において新医薬品審査および医薬品一般名称 (JAN) の作成に協力した。国立保健医療科学院特別課程薬事衛生管理コースに協力し, 講師を務めた。

## 研究業績

### 1. 有用生理活性物質の合成及び化学反応性に関する研究

- 1) 生体高分子に対して高親和性を有するニトロアクリジン-リシン付加体の強力な DNA 切断活性を明らかにした。
- 2) ベンゾフェノン誘導体を数種類合成して, 蛋白へのラベル化効率を解析し, 光アフィニティープローブとしての有用性について検討を行った。
- 3) フェノール性抗酸化剤のラジカル消去活性の増強を目的として, 酸性および塩基性アミノ酸を導入したカテキン誘導体の設計・合成を行った。
- 4) 薬物代謝酵素を阻害するアンドロスタノールおよびケトコナゾールのアセトアミノフェン誘発肝障害への影響を<sup>1</sup>H-NMR によるメタボロミクスによって検討した。
- 5) 新規がん診断・治療薬の開発を目指し, アポトーシス誘導作用を有するガドリニウム誘導体の設計・合成

を行った。

- 6) 固相フッ素化反応の自動化装置の構築を行った。
- 7) 天然アミノ酸, および非天然アミノ酸から構成される人工ペプチドを設計・合成し, さらに有機触媒として利用を検討した。
- 8) 高度に二次構造を制御した人工ペプチドを設計・合成し, 精密構造解析を行った。

### 2. 有害物質の構造決定及び毒性評価に関する有機化学的研究

- 1) レスベラトロールとそのメチル誘導体の分子軌道計算を行い, イオン化ポテンシャル及び励起エネルギー等の物理量を求めてラジカル消去活性及びプロオキシダント効果との相関について検討した。
- 2) キノン構造を有する化学物質について, 活性酸素生成機構と DNA に対する酸化的損傷能を明らかにした。さらに構造活性相関について検討を行った。
- 3) “スパイス”に含まれている合成カンナビノイドの一つである JWH-018 の推定代謝物のうち, インドール環が水酸化された代謝物 4 種および, 脱アルキル化された代謝物 4 種の合成を行った。
- 4) 違法ドラッグの活性予測のための QSAR 法の精密化に関する研究を行った。特に, 遺伝的アルゴリズムを用いた解析を行い, 良好な結果を得た。
- 5) シルデナフィル類似物質とホスホジエステラーゼ5 (PDE5) のドッキングスタディを行い無承認医薬品の活性予測を行った。
- 6) データベースの作成, コンフォメーションルサーチ (配座探索) による化学物質の構造の精密化を行った。

### 3. 薬物と生体分子の相互作用の解析に関する研究

- 1) 天然カテキンの生物活性制御を目的として合成したニンヒドリンとの反応生成物について, ヒトの神経細胞を利用した神経細胞毒性への予防効果を検証した。
- 2) 高分解能核磁気共鳴装置 (NMR) を利用した生理活性ペプチドの品質評価手法を確立する為, その予備実験としてバイオ医薬品 (インスリン) と, その構成アミノ酸について軽水中での測定法を検討した。
- 3) 固体プローブを用いた組織の<sup>1</sup>H-NMR 測定法を確立した。さらに, 拡張型心筋症モデルハムスター試料を用いたメタボローム解析を行った結果, 酸化ストレスおよびミトコンドリア機能低下に関わる代謝変動を特徴づけることができた。
- 4)  $\beta$ -セクレターゼ阻害剤の設計と合成を行うとともにその生物活性の評価を行った。
- 5) ビスフェノール型のノンセコ型リガンドの分子設計と合成を行った。
- 6) ビタミン D 受容体をターゲットにし, アンタゴニストリガンドの設計・合成を行い, 阻害活性の評価を

行った。

- 7) コンピュータモデリングを用いたデノボ設計によりノンセコステロイド型ビタミンD受容体リガンドの設計・合成を行い、転写活性の評価を行った。
- 8) リガンドが結合した核内レセプターと相互作用する人工ペプチドの分子設計を行った。

#### 4. 医薬品の品質確保に関する研究

- 1) 高分子タンパク質の新しい品質評価法の開発を目的として、<sup>1</sup>H-NMRによる種差の異なるインスリンの構造解析手法を検討した。その結果、3種のインスリン(ヒト, ウシ, ブタ)の単一および混合物の軽水中での<sup>1</sup>H-NMRスペクトルを多変量解析することによって、アミノ酸配列の違いを特徴づけることに成功した。

- 2) 原薬の開発及び製造の現状を調査し、Quality by Designの思想で開発された医薬品原薬に関する製品開発レポート実物大模型を作成した。

以上の研究は、今井耕平、筒井真仁、入江博美(芝浦工業大学大学院, 中村朝夫教授), 山縣奈々子(東京農工大学大学院, 長澤和夫教授), 矢吹 悠, 野島萌子(日本大学, 奥 忠武教授), 佐藤容行, 関山笑加(工学院大学, 南雲紳史教授), 竹内由起(東京薬科大学, 井上英史教授)の学部学生あるいは大学院生及び所内関連各部の協力を得て行った。

研究の成果は、下記学会等で発表した。

国際学会では、The21st French-Japanese Symposium on Medicinal and Fine Chemistry(京都2010.5), 240th American Chemical Society National Meeting & Exposition(米国2010.8), 31st European Peptide Symposium(デンマーク2010.9), SFRBM's 17th Annual Meeting(米国2010.11), 5th International Peptide Symposium(京都2010.12), PACIFICHEM 2010(米国2010.12), International Symposium on Free Radical Research: Contribution to Medicine(FRCM2011)(京都2011.1); 国内学会では、日本ケミカルバイオロジー学会第5回年会(京都2010.5), 第6回VD3(ビタミンD3)研究会(東京2010.6), 第63回日本酸化ストレス学会学術集会,(横浜2010.6), 第329回脂溶性ビタミン総合研究委員会(東京2010.9), 第54回日本薬学会関東支部大会(東京2010.10), 第36回反応と合成の進歩シンポジウム(名古屋2010.11), 第29回メディシナルケミストリーシンポジウム(京都2010.11), 第27回日本薬学会九州支部大会(長崎2010.12), 日本薬学会第131回年会(静岡2011.3)

また論文及び総説・解説の発表としては、Chem. Eur. J., Bioorg. Med. Chem. Lett., Chem. Res. Toxicol., Org. Biomol. Chem., Tetrahedron Lett., Lett. Org. Chem.,

J. Org. Chem., Org. Lett., J. Pept. Sci., Tetrahedron: Asymmetry, PHARM TECH JAPAN, 医薬品研究並びに厚生労働科学研究費補助金報告書, 国立機関等原子力試験研究費成果報告書, 科学研究費補助金報告書等に発表した。

## 機能生化学部

部長 内藤 幹彦

### 概要

研究業務として、3つの大課題、細胞死・細胞周期制御因子の機能解析と創薬への応用に関する研究、薬物応答予測法の開発と診断・創薬への応用に関する研究、脂質代謝の生体機能制御と創薬・安全性評価への応用に関する研究を中心に行った。

細胞死・細胞周期制御因子の機能解析と創薬への応用に関する研究では、細胞死阻害タンパク質の新しい機能を見出し、これらの細胞死阻害タンパク質が細胞周期制御や遺伝子発現制御にも重要な機能を持つ事を明らかにした。また、2種類のリガンドドメインを持つハイブリッド分子(SNIPER)を合成し、標的とするタンパク質を選択的に分解するプロテインノックダウン法についての研究を進めた。

薬物応答予測法の開発と診断・創薬への応用に関する研究では、引き続き所内の共同研究部との連携により、抗がん剤の応答性に関連する遺伝子の多型解析および機能解析を継続し、新規の薬物動態および有害事象に関わる遺伝子多型を複数同定し、医薬品の安全性評価や個別化医療への応用につながる基盤的情報を提供した。

脂質代謝の生体機能制御と創薬・安全性評価への応用に関する研究に関しては、HDL産生膜輸送担体の機能ドメインならびに肝特異的な遺伝子転写制御に新知見を得るとともに、内分泌攪乱物質有機スズがHDL産生を促進する現象とその機序を明らかにし、今後の創薬・安全性評価への応用において重要な研究成果を得ている。

人事面では、平成23年3月1日付けで柴田識人博士が第二室主任研究官として、平成23年3月25日付けで服部隆行博士が第二室主任研究官として採用された。佐井江主任研究官は、平成23年2月1日付けで医薬安全科学部第一室長に配置換えとなった。

### 研究業績

#### 1. 細胞死・細胞周期制御因子の機能解析と創薬への応用に関する研究

- 1) IAPによる細胞死・細胞周期制御に関する研究で

は、Apollon が Nek2 の分解を制御し、細胞周期の M 期制御に重要な機能を持っていることを明らかにした (一般試験研究費)。

2) 細胞死阻害タンパク質を標的とした分子標的治療薬開発に関する研究では、cIAP1 に結合する MeBS と CRABP2 に結合する All-Trans Retinoic Acid (ATRA) を conjugate したハイブリッド化合物 (SNIPER) を各種合成し、SNIPER が cIAP1 による CRABP2 のユビキチン化とプロテアソームによる分解を引き起こす事を明らかにした (一般試験研究費)。

3) 腸管出血性大腸菌の志賀毒素に関する研究では、毒素による細胞の毒性発現機構とペプチドによる毒性中和を検討する実験系の開発を行った (厚生労働科学研究費補助金)。

## 2. 薬物応答予測法の開発と診断・創薬への応用に関する研究

1) 日本人癌患者において、抗がん剤イリノテカンの活性化に関わる *CES1* 遺伝子の構造 (*CES1A1*, *1A2*, *1A1 variant* および偽遺伝子 *1A3*) の詳細を調べ、イリノテカン投与後の CES 活性指標 (活性体及びその代謝物の血中濃度) が活性型 *CES1* 遺伝子の数に相関することを明らかとした (一般試験研究費)。

2) バクリタキセル (PTX) 投与患者において、*ORM* 遺伝子 (*ORM1* および *ORM2*) の多型と血清 AGP 値および PTX 薬物動態との関連を解析し、血清 AGP 値ならび PTX 代謝物の AUC 値と相関する *ORM1* の 5'-上流領域の多型を見出した。この多型による *ORM* 発現影響を調べるため、in vitro 機能解析系の構築を行った (科学研究費補助金 (文部科学省))。

## 3. 脂質代謝の生体機能制御と創薬・安全性評価への応用に関する研究

1) 抗動脈硬化薬創成に関する基礎研究として HDL 産生に最重要の肝 ABCA1 に関し、新規のヒト肝特異的 mRNA バリエントが量的・機能的に重要な役割を持つことを特異的ノックダウンにより示した。内分泌攪乱物質有機スズが ABCA1 発現上昇を介して HDL 産生を促進する作用を見いだした (政策総薬総合研究事業)。

2) 核内受容体選択的モジュレーター機能発現に関する研究の一環として、サブタイプ選択的 LXR リガンドが、受容体とコアクチベーターとの相互作用誘導を介して機能を発現することを示すと同時に、LXR $\alpha$ /RXR 選択的活性化リガンドを新たに同定した (科学研究費補助金 (文部科学省))。

3) 膜輸送担体の機能ドメインを有した分解産物について、レンチウイルスにより強制的に発現する細胞系を構築し、発現遺伝子の変化について網羅的に解析する

系を確立した (科学研究費補助金 (文部科学省))。

4) ナノマテリアルのヒト健康影響の評価手法の開発の一環としてカーボンナノチューブの気管内投与マウス大動脈血管壁の接着分子発現に及ぼす影響を解析するとともに、培養細胞での炎症性サイトカイン IL-1 $\beta$  産生促進作用を見いだした (厚生労働科学研究費補助金)。

## 代謝生化学部

部長 手島玲子

### 概要

業務関連物質の代謝生化学的試験及びこれに必要な研究を推進して行くこと、新規に開発されてくる食品に対応できる評価研究を手がけてゆくこと、食品等のアレルギーに関する評価研究を行うことを当部の大きな目標としてかかげているが、平成22年度、当部において、具体的には、以下の5つの課題に従って研究業務を行った。すなわち、(i) 免疫系細胞の機能に関する研究、(ii) 生体高次機能に及ぼす薬物等の影響の分子論的解析技術の開発、(iii) 遺伝子組換え食品の検査法・安全性に関する研究、(iv) 健康食品の安全性に関する研究、(v) 食物中アレルギー物質に関する研究である。

人事面では、松山大学薬学部、好村守生助教、独立行政法人農研機構食品総合研究所、佐藤里絵研究員を協力研究員として、また、大阪薬科大学薬学部、天野富美夫教授を客員研究員として受け入れた。また、平成22年10月1日より第2室の研究員として、中村公亮博士が採用され、同じく10月1日付けで、中村里香博士を研究助手として採用した。また、創薬基盤推進研究事業 (政策創薬総合研究推進事業) による流動研究員に、小櫃冨未博士が採用された ((財) 日本医学医療交流財団) (5月1日付け)。また、平成23年4月1日付けで、穂山 浩第2室長が、食品添加物部部長に昇任し、同日付で、手島部長が第2室長併任を任ぜられたが、平成23年5月16日付けで、近藤一成主任研究官が、第2室長に昇任した。

外国出張は、以下の通りである。手島部長は、(平成22年10月20日~25日) ILSI-Europe 等による Joint Symposium "Frontiers in Food Allergen Risk Assessment" で日本のアレルギーを含む食品のリスク管理に関する講演を行うためフランス・ニースに出張した。また、2010 国際薬学会/米国薬学会合同会議 (FIP-PSWC/AAPS) (平成22年11月16日~20日) のバイオテクノロジー製品に対する免疫応答のシンポジウムで、遺伝子組換え食品のアレルギー性に関する講演を行うため米国ニューオー

リンズに出張した。穂山 浩室長（平成22年5月8日～5月12日）は第6回食物アレルギー手法ワークショップ（Sixth Workshop on food allergen methodologies）で、日本のアレルギーを含む食品の管理に関する講演を行うため、カナダ・トロントに出張した。中村亮介主任研究官は、2010ヨーロッパアレルギー学会（EAACI）で研究成果発表を行うため、イギリスのロンドン（平成22年6月4日～6月9日）へ出張した。

### 業務成績

1. 遺伝子組換え食品検査法の外部精度管理のため、複数機関による安全性未承認の害虫抵抗性遺伝子組換えコメ（63Bt コメ、NNBt コメ、CpTI コメ）の定性検査（リアルタイムPCR法）を対象として外部精度管理試験を実施した（食品・添加物等規格基準に関する試験検査費、医薬食品局食品安全部基準審査課新開発食品保健対策室）。
2. 安全性未承認GM食品監視対策の、緊急時対応として安全性未承認遺伝子組換えパパイヤ（PRSV-YK）検知法の開発を実施した（食品・添加物等規格基準に関する試験検査費、医薬食品局食品安全部基準審査課）。
3. 食品表示に関する試験検査のため、安全性審査済の遺伝子組換え大豆スクリーニング定量試験法の妥当性確認、遺伝子組換えトウモロコシLY038系統定量検知法の妥当性確認、遺伝子組換えトウモロコシMIR604系統の定性試験法の確立、遺伝子組換えパパイヤ55-1系統の特異的検知法の開発を行った（消費者庁消費者政策調査費、消費者庁食品表示課）。
4. アレルギー物質を含む特定原材料に準ずるものの検査法の確立のため、ももおよびりんごアレルギーに対する抗体を作成し、ELISA系を構築するための基礎的検討を行った（消費者庁消費者政策調査費、消費者庁食品表示課）。
5. 食品等試験検査（アシタバ製品中のフロクマリン類の含有量調査）のため、HPLC及びLC/MSを用いた分析を行った（食品・添加物等規格基準に関する試験検査費、医薬食品局食品安全部基準審査課新開発食品保健対策室）。
6. 食品等試験検査（イチヨウ葉エキスを含む健康食品製品中のギンコール酸の含有量実態調査）のため、HPLCを用いた分析を行った（食品・添加物等規格基準に関する試験検査費、医薬食品局食品安全部基準審査課新開発食品保健対策室）。
7. 保健医療科学院食品衛生管理コース（平成23年2月）で食物アレルギー及び遺伝子組換え食品の表示と検知法並びにきのこによる食中毒について講義を行っ

た。JICA特別研修コースで遺伝子組換え食品について講義を行った（平成23年2月）。

8. 薬事・食品衛生審議会の新開発食品調査部会（厚生労働省医薬食品局食品安全部）に協力し、また、消費者庁の食品表示部会、新開発食品調査部会委員としても協力を行った。また、薬事・食品衛生審議会の医薬品第一部会、生物由来技術部会に協力した。他省庁関係では、食品安全委員会専門調査会（内閣府）、農林物資規格調査会（農林水産省）、ISO/TC34/WG7遺伝子組換え分析法専門分科会、（独）医薬品医療機器総合機構における専門協議に専門家としての立場から参画・協力した。

### 研究業績

#### 1. 免疫系細胞の機能に関する研究

- 1) 遺伝子組換え食品に導入され発現しているタンパク質並びに既存のアレルゲンのアレルギー性評価法に関して、以下の研究を行った。a) 導入タンパク質のアレルゲン性予測に必要とされる既存アレルゲンとの構造相同性の評価に利用する目的で、アレルゲンデータベース（ADFS）のアレルゲンデータの整備、エピトープ情報の追加を行い、また、低分子アレルゲンデータベース構築のための情報収集に着手した（厚生労働科学研究費補助金）。b) 環境耐性組換え植物のモデルとして、ジャガイモ線虫RKN（root-knot nematode）抵抗性遺伝子を導入したじゃがいもを用い、プロテオーム解析、アレルゲノーム手法によるアレルゲンの網羅的解析、動物モデルの検討を行った（厚生労働科学研究費補助金）。c) そばの主要アレルゲンのエピトープ部位の同定を行い、エピトープ部位に対する単クローン抗体の作成を行い、ELISAの構築を行った（一般試験研究費）。d) 遺伝子組換え食品に導入されているタンパク質の同時定量を行うため、害虫抵抗性タンパク質3種（Cry1Ab, Cry1Ac, Cry3Bb1）と除草剤耐性タンパク質2種（CP4-EPSPS, PAT）に対する抗体を作成した（厚生労働科学研究費補助金）。
- 2) 「発生・増殖・情報伝達に関与する因子並びに分子の安全性・生体影響評価」の一環として、骨代謝系に関与する因子の一つとして破骨細胞に発現する細胞骨格タンパク質であるビメンチンの役割について検討し、ビメンチンと細胞接着因子との相互作用が重要であることを示した（特別研究）。
- 3) 特異的IgE抗体を検出するRS-ATL8細胞の応用研究を行い、また、IgG抗体の微量測定を行うための新規IgG高親和性キメラ受容体の分子デザインを行った（科学研究費補助金（文部科学省））。

- 4) 有害作用標的性に基づいた発達期の化学物質暴露影響評価手法の確立に関する研究で、有機リン系農薬クロルピリフォスの発達期免疫毒性についてBALB/cマウスを用いて検討を行った(厚生労働科学研究費補助金)。
- 5) 免疫調整作用に基づく医薬品探索とその安全性評価技術の開発に関する研究で、粘膜免疫異常疾病、骨免疫異常疾病、神経免疫異常疾病を予防・治療する医薬品を開発するために、プロポリスの含有成分等の食品素材から有用な成分の探索を行った。併せてそれらの有効成分の有効性・安全性評価技術の確立を検討した。特に、神経変性疾患を評価する測定系が有用な系として開発された(政策創薬総合研究事業)。

## 2. 生体高次機能に及ぼす薬物等の影響の分子論的解析技術の開発

「ナノ物質の経口曝露による免疫系への影響評価手法の開発」において、シリカナノ物質の腸管免疫系に対する免疫増強作用をマウスにて調べ、スクリーニング目的のin vitro測定法について検討した(食品健康影響評価技術研究委託費・内閣府食品安全委員会)。

## 3. 遺伝子組換え食品の検査法・安全性に関する研究

- 1) 「第3世代バイオテクノロジー応用食品等の安全性確保に関する研究」(厚生労働科学研究費補助金)で、以下の研究を行った。(a)安全性未審査遺伝子組換えトマト、パパイヤ、魚、コメ等の検知法の確立を検討した。(b)種子エピジェネティクスを利用した新規検知法の開発を試みた。
- 2) 「非食用バイオテクノロジー応用生物の食品への混入危害防止に関する安全性確保のための研究」(厚生労働科学研究費補助金)の一環で、非食用バイオテクノロジー応用植物・生物に関する開発の実用化の動向を調査し、検知法の確立を検討した。また、データベースの作成にも着手した。
- 3) 「食品衛生法における遺伝子組換え食品等の表示のあり方に関する研究」(厚生労働科学研究費補助金)の一環で、とうもろこしスタック系統GM食品へ対応した検査体制として一粒試験法の確立と検証を行い、一次スクリーニング用の試験法の定量性の妥当性確認を行った。また、各国の組換え食品の表示について調査を行い、表示のあり方についての検討を行った。また、2009年度産の不分別とうもろこしにつき一粒試験法を用いて、実態調査を行った。

## 4. 健康食品の安全性に関する研究

- 1) 「健康食品による健康被害防止のための研究」の一環として、天然植物をもちいた健康食品について、産地、年度別の成分変化をHPLC及びLC/MSを用いて検討を行った。また、インビトロ細胞培養系で毒性評

価を行った(一般試験研究費)。

- 2) 「特異な脂肪酸の神経細胞のプログラム細胞死に関する研究」においてキノコ由来の特異な脂肪酸の神経細胞死の作用機構について検討し、これまでのアポトーシスに関連する分子群の多くが関与しないで、ネクロトーシスに関連する分子の関与が示唆された。(科学研究費補助金(文部科学省))

## 5. 食物中アレルギー物質に関する研究

- 1) 「食物アレルギーの疾患の発症要因の解明および耐性化に関する研究」の一環として、以下の研究を行った(厚生労働科学研究費補助金)。(a)トランスジェニックマウスを用いてベータカロテンの食物アレルギー感作抑制を検討し、パイエル板や腸間膜リンパ節に特徴的なT細胞が増加していることが明らかになった。(b)魚卵及びももの抗原解析を行い、アレルギーの発症予防に関して検討した。
- 2) 「科学的知見に基づく食物アレルギー患者の安全管理とQOL向上に関する研究」の一環として、以下の研究を行った。(a)アレルギー物質を含む食品である、キウイフルーツ、バナナ等の果実類の検査法開発、及び現行の特定原材料検査法の抽出液及び標準品の改良について検討を行った。(b)アレルギー物質を含む食品の迅速・簡便な定量的検知法の開発について検討を行った。(c)症例数の増加等のため今後対応が必要となる可能性の高い食物アレルゲンとして、ゴマタンパク質とアレルギー患者血清との反応性等に関する解析を行った。
- 3) 「医薬品添加剤等の安全性確保に関する研究」の一環として、医薬品及び化粧品等に含有されるアレルギー物質を含む食品に由来する添加剤等に関する調査研究を行った(厚生労働科学研究費補助金)。

## RI 管理業務

平成22年度放射線業務従事者93名、取扱等業務従事者14名の登録があった。また、平成23年3月11日の東日本大震災の発生後の福島原子力発電所の事故に伴い、測定機器の整備、外部からの問い合わせへの対応、食品安全委員会での食品の放射性物質の暫定基準値の妥当性に関する議論に参画した。

## 安全情報部

部長 森川 馨

## 概要

安全情報部は、医薬品、食品、化学物質の安全性確保

のために、これら医薬品、食品、化学物質に関わる安全性情報の科学的、体系的な情報の収集、解析・評価及び提供とこれらに関わる研究業務を行っている。平成22年の業務としては、前年度に引き続き、医薬品及び食品の安全性に関する海外の最新情報、緊急情報及び学術情報を調査し、「医薬品安全性情報」、「食品安全情報」として定期的に発行するとともに Web において広く一般に提供した。化学物質の安全性に関しては国際協力事業等をおこなった。また、図書室の業務として、図書情報サービス、及び国立医薬品食品衛生研究所報告編集業務等を行った。

人事面では、22年4月1日田邊思帆理主任研究官が遺伝子細胞医薬部より安全情報部に配置転換になり、23年4月1日に企画調整主幹付併任になった。海外出張は、森川部長が、第25回国際薬剤学会(米国・プロビデンス、平成21年8月14日～21日)に参加し情報を得ると共に意見交換を行った。青木主任研究官は、米国・コロラドで開催されたコ克蘭・キャンベル共同研究合同コロキウム(平成22年10月18日～22日)に参加し、医薬品の安全性評価に関する情報交換を行った。窪田室長は、米国・アトランタで開催された第7回胃腸炎疾患被害実態研究国際協力会議および新興感染症に関する国際集会2010(ICEID2010)(平成22年7月9日～16日)に参加し、胃腸炎疾患被害実態研究に関する情報交換を行った。登田主任研究官は、スペイン・バルセロナで開催された第12回国際トキシコロジー学会(平成22年7月19日～23日)に参加し、食品中化学物質の毒性に関する情報を得ると共に意見交換を行った。森田室長は、国際化学物質安全性カード(ICSC)の原案検討会議(ドイツ・サントオグスチン、平成22年5月3日～7日；カナダ・モントリオール、平成22年11月8日～12日)、第19回及び第20回国連GHS専門家小委員会(スイス・ジュネーブ、平成22年6月30日～7月2日及び平成22年12月7日～9日)に出席した。また、スペイン・バルセロナで開催された第12回国際トキシコロジー学会(平成22年7月19日～23日)に参加し、*in silico* 毒性評価法について議論するとともにその進捗について情報を得た。また、英国・ハンチンドンで開催されたコメットアッセイバリデーション運営委員会第8回会議(平成23年2月7日～9日)に出席し、本試験法のOECDテストガイドライン化に向け、国際バリデーション試験の結果評価や今後の方針を議論した。

## 業務業績

### 1. 医薬品の安全性情報に関する業務

WHO、米国FDA、EU EMA、英国MHRA、Health Canada、豪TGA、ニュージーランドMEDSAFEなどの海外公的機関から発信される医薬品の安全性に関わる

最新情報、規制情報、評価情報等を収集、評価し、「医薬品安全性情報」として隔週で行政、国立病院などの関連部署に配信した。また研究所のWebサイトを通じて一般にも情報提供を行った。また海外の医学系学術雑誌から医薬品の副作用に関する論文を収集して検討し、重要な安全性情報については行政などの関連部署に背景情報や関連データを含めた詳細な情報提供を行った。

### 2. 食品の安全性情報に関する業務

食品の安全性に関わる国際機関(WHO、FAO、コーデックス委員会、IARC等)や各国担当機関(EUのDG-SANCOやEFSA、米国FDA、英国FSA、カナダ保健省、その他)の最新情報、規制情報、評価情報等、及び主要な学術雑誌を調査し、重要な情報を要約した「食品安全情報」(隔週刊)を定期的に発行した。また、国内外で新たに生じた食品安全上の課題について詳細な調査を行い、行政のリスク管理に反映させると共に、関連機関における情報共有をはかった。「食品の安全性に関する情報」Webサイトを作成し、調査した情報を提供した。

### 3. 化学物質の安全性に関する国際協力

#### 1) 国際化学物質安全性カード(ICSC)の作成

本邦で作成した4物質(クロロファシノン、エチオフェンカルブ、メカルバム、ダイファシノン)を含む79物質のICSC英語原案を最終化するとともに翻訳し、Webサイトで提供した。ドイツ・サントオグスチン(平成22年5月)ならびにカナダ・モントリオール(平成22年11月)でのICSC原案検討会議に森田室長が出席し、最終検討を行った。

#### 2) 化学品の分類および表示に関する世界調和システム(GHS)への対応

スイスのジュネーブで開催された第19回(平成22年7月)および第20回国連GHS専門家小委員会(平成22年12月)に森田室長が出席し、諸問題について協議した。また、253の労働安全衛生法関連化学物質のGHS分類を支援した。

#### 3) 国際的化学物質評価文書の翻訳

5件のEUリスク評価書(n-ペンタン、エデト酸、アニリン、ムスクキシレン、アルカン類)および4件のNTP-CERHRモノグラフ(アンフェタミン、フタル酸ジイソノニル、フタル酸ジ-n-ヘキシル、フタル酸ジ-n-オクチル)の主要部分の翻訳を行い、Webサイトに掲載した。

### 4. 図書・情報サービス

#### 1) 雑誌類の管理と相互貸借

雑誌については前年に引き続き購入することとし、単行本53冊を購入した。この結果、購入中の雑誌は132タイトル、管理している単行本は13,855冊となっ

た。文献の相互貸借事業に関しては、外部から125件の依頼を受け、外部へ761件を依頼した。

## 2) 図書情報検索サービス

電子ジャーナルを前年に引き続き導入した。また、有料 Web 情報検索ツール 1 件を新規に追加し、計 4 件となった。

## 3) 国立医薬品食品衛生研究所報告編集業務

国立医薬品食品衛生研究所報告(平成22年、第128号)の作成と配布に関し、当所の国立衛研報告編集委員会に協力した。

## 研究業績

### 1. 医薬品の安全性に関する研究

#### 1) 医薬品の安全性に関する情報の科学的・体系的収集、解析、評価に関する研究

医薬品の安全性に関する海外公的機関の最新の勧告、規制情報等について、根拠となった公表文献等を収集・検討し、情報提供した(27号発行、総ページ数624ページ)。本年度特に問題とされた安全情報としては、糖尿病薬ロシグリタゾンの重篤な心血管リスクに関する各規制機関の対応(使用制限や市場撤退)、抗癌剤アバスチン(迅速承認制度による承認済み)に関する乳癌の適応削除の勧告、OTC コデイン咳止め薬に関する有効性のエビデンス欠如による使用制限、ビスホスホネート系薬の長期使用に関連した非定型骨折リスクのエビデンスと注意喚起などがあった。また、妊娠初期の使用による先天異常のリスクに関して、バルプロ酸単剤、カルバマゼピン単剤、抗ウイルス薬、プロトンポンプ阻害薬などについて調査を行い情報提供を行った(一般試験研究費)。

#### 2) 大規模副作用症例データベースの解析に関する研究

現在、世界で唯一公開されている米国 FDA の大規模副作用報告データベース Adverse Event Reporting System 13年分(1997年～2010年 4 thQTR 約410万件；3,073,340症例)を用いて、抗精神病薬における糖尿病、悪性症候群、抗 HIV 薬における乳酸アシドーシス、リボジストロフィー、抗てんかん薬における SJS などの事例を用いて、複数の薬剤使用が報告される市販後副作用報告データから各薬剤の副作用を解析する方法を検討した。階層ベイズモデルを用いた解析により併用データから各薬剤の副作用を解析できることを示し、ベイズ推定を用いた解析が、従来は解析が不可能であった薬剤の併用など複数の要因を含むデータの解析を可能にし、医薬品の安全性確保に役立つことを示した。また、日本のレセプトデータを用いた解析として、高齢者における抗精神病薬の使用に関する調査を行った(一般試験研究費)。

### 2. 食品の安全性に関する研究

#### 1) 食品の安全性に関する情報の科学的・体系的収集、解析、評価に関する研究

食品の安全性に関する国際機関や各国機関の最新情報、規制情報、アラート情報及び文献等を調査・収集し、「食品安全情報」(隔週刊)を26報発行した。「食品安全情報」は Web で一般公開している。また、国内外で新たに生じた食品安全上の問題や健康への影響が懸念される課題等について、網羅的に情報を収集し、検討した(例：ハイチのコレラアウトブレイク等)。加えて、食品添加物データベース及び Web サイトで提供している食品関連情報について、情報の追加・更新を行った。また「口蹄疫関連情報」Web サイトを作成し、適宜情報提供を行った(一般試験研究費)。

#### 2) 食中毒調査の精度向上のための手法等に関する調査研究

急性下痢症疾患による被害実態推定のモデル研究として、M 県における積極的サーベイランスおよびレセプトからのデータを電話住民調査データと組み合わせた被害実態推定を行った(厚生労働科学研究費補助金)。

#### 3) 食中毒関連情報調査

食中毒事件調査結果詳報データベースから食中毒調査支援システム(NESFD)データベースへのデータ移行作業を行い、更新および新規データの入力を行った。また過去の「食品安全情報」全てをデータベースへ入力すると共に新しい情報を継続して入力した。また、食中毒関連のメディア情報を収集し、関係者に毎日配信すると共に NESFD データベースへの入力を行った(食品等試験検査費、医薬食品局食品安全部監視安全課)。

#### 4) 食品中の自然毒のリスク管理に関する研究

わが国で平成元年～22年に発生した自然毒による食中毒事例について傾向を調査・分析した。また都道府県等の食品衛生担当部局(計136カ所)を対象に、食品中の自然毒に関するリスク管理の現状を把握するためのアンケート調査を実施した(厚生労働科学研究費補助金)。

#### 5) 食品衛生監視員による食品衛生監視手法の高度化に関する研究

食品中に含まれる揮発性有機化合物のデータを各種文献から収集した(厚生労働科学研究費補助金)。

#### 6) 輸出国における農薬及び動物用医薬品の使用状況等に関する調査研究

残留農薬や動物用医薬品についての諸外国でのモニタリング状況を調査し、モニタリング検査の対象に含まれていない農薬等を抽出した(食品等試験検査費、

医薬食品局食品安全部監視安全課)。

7) 体細胞クローン牛・豚に由来する食品の安全性に関する文献調査

体細胞クローン動物とその子孫由来食品について、食品としての安全性に関する文献を調査し、報告を行った(食品等試験検査費、医薬食品局食品安全部監視安全課)。

8) 魚類中に含まれるヒスタミンに関する調査

米国における魚類中のヒスタミンに関する規制の科学的根拠及び平成20年以降に国内で発生したヒスタミン食中毒事例の原因について調査を行った(食品等試験検査費、医薬食品局食品安全部基準審査課)。

### 3. 化学物質の安全性に関する研究

1) 化学物質管理における世界戦略へ対応するための法規制等基盤整備に関する調査研究

国連 GHS 分類において試験結果の妥当性評価の鍵となる17件の OECD 毒性試験ガイドラインを翻訳し、既翻訳の51件とともに Web サイトに掲載した(厚生労働科学研究費補助金)。

2) 国際協調により公的な試験法を確立するための手順に関する研究

Bhas42細胞形質転換試験のバリデーション試験で用いる被験物質を目的、背景情報、発がん性、既存の標準的遺伝毒性試験結果、特性(物性および化学物質クラス)ならびに入手可能性から検討し、計16物質を選択した(厚生労働科学研究費補助金)。

3) 毒物劇物の指定に係る毒性情報等の調査研究

国連危険物輸送勧告において Class 6.1(毒物)あるいは Class 8(腐食性物質)に分類され、100トン以上の製造及び輸入量がある *o*-アミノフェノール、亜リン酸、オルトケイ酸テトラメチル、三フッ化ホウ素ジエチルエーテル、2-(ジエチルアミノ)エタノール、1,1-ジメチルヒドラジンおよびメタバナジン酸アンモン、ならびに薬事法の指定薬物の2-(メチルアミノ)-1-(4-メチルフエニル)プロパン-1-オン及びその塩類(通称:4-メチルメトカチノン、メフェドロン、4-MMC)の8物質について、物性、急性毒性、刺激性及び既存規制分類に関する情報を収集・評価し、毒劇物指定に係る評価原案を提供した(医薬品審査等業務庁費)。

4) 化学物質による緊急の危害対策を支援する知識情報基盤の研究

米国による急性曝露ガイドラインレベル(AEGL)が最終化されている60物質についてリストならびに AEGL 一覧を作成するとともに、概要版翻訳文書を作成継続している。また、毒物劇物取締法データベースのデータの追加・更新を行った(医薬品審査等業務庁費)。

## 医薬安全科学部

部長 齋藤嘉朗

### 概要

当部では、医薬品の適正使用に資することを目標に、医薬品の安全性に関する情報の解析及び評価、医薬品による副作用の発現の予測及び防止その他の医薬品の安全性の確保に関する研究を行っている。医薬品の安全性に対する国民の関心の高まりと共に、副作用の実態を明らかにし、その発症を予測・回避しうような知見を明らかにすること、さらにその知見に基づいた安全な投薬法の開発や行政施策への反映は、今後ますます社会的な要請が大きくなっていくものと考えられる。当部でも、患者臨床試料を対象にしたゲノミクス・メタボロミクス解析など、常に最先端の技術・方法を用いて医薬品の安全性に関する調査・研究を行い、患者がより安心して医薬品を使用できるよう、業務に邁進している。

副作用の原因は、医薬品自体の要因と服薬する患者側の要因とに分類できる。これまでは抗がん剤の副作用および3種の重篤副作用に関し、患者臨床試料のゲノム解析など患者側の要因を探索する研究を主として遂行してきた。世界的な研究の進展および行政上の必要性もあり、本分野の研究を中心に行うことは変わらないが、平成22年度からは医薬品による免疫学的副作用に関する *in vitro* の解析という医薬品自体と患者側の両方の要因を解析しうる研究を開始した。重症薬疹や薬物性肝障害など、発症予測が難しい重篤副作用には免疫系が関与するものが多く、*in vitro* と患者 (*in vivo*) の解析という異なるアプローチで研究を行うことにより、これら副作用の本態に迫り、将来の副作用予測につなげることできると考えている。

人事面では、平成23年2月1日付けで第一室長として佐井君江博士を機能生化学部より迎えた。また同年3月1日付けで、秋田大学バイオサイエンス教育・研究センター助教の中西広樹博士が協力研究員として認められ、共同で脂質メタボローム解析を行うこととなった。さらに当部の発足以来、医薬品の安全性に関するファーマコゲノミクス解析、電子医療情報を用いた副作用の情報学的解析、日中韓の薬物動態学的データにおける民族的要因に関する研究等に多くの業績をあげた頭金正博第二室長が平成23年3月31日付けで退官し、同年4月1日付けで名古屋市立大学大学院薬学研究科医薬品安全性評価学分野の教授に就任した。頭金教授は、同日付けで当部の客員研究員となり、今後も共同研究を行っていくこととなった。なお後任として前川京子主任研究員が同年5月16日付けで第二室長に昇任した。

海外出張は以下の通りである。頭金正博第二室長は日中韓局長級会合及びAPEC-MRCTワークショップで発表するため韓国に出張した(平成22年9月)。齋藤嘉朗部長、鹿庭なほ子研究員は、重篤副作用症例の集積・遺伝子解析に関する調査のため、本省医薬食品局安全対策課の石黒係長と韓国・台湾に出張した(平成23年2月)。

## 業務成績

### 1. 生物学的同等性試験ガイドライン作成委員会

表記委員会に参加し、昨年に引き続いて「皮膚適用製剤の剤形追加のための生物学的同等性試験ガイドライン」及び同Q&Aのパブリック・コメントに対する対処について検討した。また、「後発医薬品のための生物学的同等性試験ガイドライン」、「含量が異なる経口固形製剤のための生物学的同等性試験ガイドライン」、「経口固形製剤処方変更のための生物学的同等性試験ガイドライン」、及び、これらガイドラインのQ&Aの改訂について検討を行った。ジェネリック医薬品品質情報検討会ワーキンググループでは、イトラコナゾール製剤及び吸着炭製剤の品質確保に関する検討を行った。

### 2. 内閣府食品安全委員会

添加物専門調査会及び動物用医薬品専門調査会、高濃度にジアシルグリセロールを含む食品に関するワーキンググループに出席し、食品のリスク評価を行った。

### 3. 日本薬局方及び日本医薬品一般的名称データベースの開発

医薬品名称委員会及び医薬品名称専門協議と連携し、有機化学部と共同で日本薬局方及び日本医薬品一般的名称データベースの開発を行った。

### 4. OECD Toxicokinetics 試験ガイドライン (TG417) の改訂

表記改訂作業に専門委員として参加し、改訂ガイドラインは平成22年7月22日付けで発出された。

## 研究業績

### 1. 医薬品の安全性情報の解析に関する研究

#### a) 有害事象の発症に関連した患者背景因子に関する疫学的解析

国立がん研究センター中央病院の電子カルテより、カペシタビンの実診療における診療情報及び有害事象情報を収集し、手足症候群発現と患者背景因子との関係または治療効果との関係を検討した。

#### b) 病院情報システムを用いた医薬品の使用実態と副作用の発生状況に関する調査・研究(医薬品使用実態調査・安全対策推進事業)

昨年度構築した処方データならび臨床検査値データを利用した、スタチン系高脂血症治療薬による筋障害

発症症例の検出アルゴリズムについて、その有用性を検証するためのスキームを構築し、実際の病院情報システムデータを用いて検証解析を開始した。また、同様に処方データならび検査値データを利用した薬物性肝障害の検出アルゴリズムの構築ならびにその評価法を考案した。

#### c) 重篤副作用発症と関連する遺伝子多型探索研究における症例集積方法の改良及び遺伝子マーカーの民族差の検討(遺伝子多型探索調査事業)

重篤副作用の遺伝子多型探索を行っている韓国のファーマコゲノミクス研究ネットワーク(ソウル国立大学)および台湾のアカデミア・シニカおよびチャングン記念病院を訪問し、症例の集積方法および重篤副作用マーカー探索研究の進展について調査した。

## 2. 医薬品の安全性に関するゲノム/メタボローム薬剤疫学的研究

### a) 日中韓の臨床データにおける民族的要因を評価するための研究

東アジア諸民族での既存の薬物動態データを調査し、民族差が認められたモキシフロキサシン、シンバスタチン、メロキシカムを対象に日中韓米で薬物動態試験を実施し、東アジア諸民族間での薬物動態特性を厳密に比較すると同時に、民族差が生じた要因を検討した。

### b) 甲状腺ホルモン受容体(TR)を介したヒトMDR1遺伝子の発現誘導機構

MDR1遺伝子によってコードされる薬物トランスポーター、P-糖蛋白質は、薬物体内動態に深く関与しており、その発現変動は薬効や副作用の現れ方に大きな影響を与えると考えられる。本研究では、核内受容体TR、VDR、PXR、CAR等を介したMDR1の発現誘導機構を解析しており、昨年度に引き続きTRによるMDR1の発現誘導機構を解析した。MDR1上流の新規発現制御領域に結合する核タンパクの磁気ビーズを用いたDNAアフィニティー精製法による精製を行った。

### c) 重症薬疹発症に関連する遺伝子マーカーの探索

薬物による重篤な副作用のひとつに重症薬疹(ステイブンス・ジョンソン症候群(SJS)、中毒性表皮壊死(TEN))があり、重篤な場合には死に至り、また、眼や肺に重い後遺症が残る。その後のQOLが著しく低下することがある。SJS/TENの発症と関連する遺伝子マーカーを探索する目的で、ケース・コントロール研究を継続した。症例の集積を行うと共に、HLAのタイピング及びDNAマイクロアレイによる網羅的遺伝子多型解析を行った。カルバマゼピンによるSJS/TENに関しては、台湾の漢民族において遺伝

子マーカーであると報告された *HLA-B\*1502* は引き続き見出されなかったものの、*HLA-B\*1502* と同一のセロタイプ *HLA-B\*75* に属する *HLA-B\*1511* との間にオッズ比10以上で強い関連が認められた。一方、アロプリノールによる SJS/TEN では、引き続き、台湾の漢民族において遺伝子マーカーであると報告された *HLA-B\*5801* との関連が確認された。また、1000人の健常人を対照群として、100万種類の多型を搭載した DNA マイクロアレイを使用して網羅的遺伝子多型関連解析の結果、*HLA-B\*5801* と完全に連鎖する一塩基多型 (SNP) を検出した。本 SNP のスクリーニング法を開発することにより、アロプリノール誘因性重症薬疹防止のための安価な遺伝子検査法の確立の可能性が示唆された。

d) 薬物性肝障害に関連する遺伝子マーカーの探索

薬物性肝障害は広範な医薬品が原因となり発症する副作用の一つであり、重篤化する場合も多く、医薬品の適正使用にとって大きな問題となっている。昨年度に引き続き、肝臓を専門とする医師の協力を得て、症例集積を継続した。これまでに約52症例を集積した。

e) 横紋筋融解症に関連する遺伝子マーカーの探索

横紋筋融解症は、スタチンをはじめとする広範な医薬品が原因と成り得る重篤副作用であり、クレアチンキナーゼ値の上昇、筋肉痛や脱力感、さらにはミオグロビン尿と呼ばれる赤褐色の尿が出る事が知られている。発症機序が不明であること、さらには腎臓透析に至る場合があることなどから、医薬品の適正使用上、重大な問題となっている。厚労省安全対策課及び日本製薬団体連合会の協力の下、全国から副作用症例を集積するシステムにより、これまでに28症例を収集した。

f) 抗うつ薬 SSRI (serotonin selective reuptake inhibitor) の薬剤応答性の指標となる遺伝子マーカーの探索

うつ病の薬物療法において、SSRI (selective serotonin reuptake inhibitor) および SNRI (serotonin noradrenalin reuptake inhibitor) は第一選択薬とされているが、その薬物応答性には個人差が有り、その原因としては遺伝的要因が想定されている。そこで本研究では、未知の原因遺伝子の同定が可能な全ゲノム関連解析の手法を用いて、SSRI/SNRI の薬物応答性を予測するための遺伝子マーカーの探索を行っている。本年度は、SSRI/SNRI による副作用として近年問題となっている性機能障害について、201名の SSRI/SNRI 服用コホートサンプル (このうち36名が性機能障害発症者) について解析を行った。その結果、第14番染色体14q21.3領域にある同一遺伝子上の SNPs

と SSRI/SNRI 誘因性の性機能障害との間に強い関連性が認められた。

g) 日本人がん患者におけるゲムシタピンの薬物動態解析及び関連遺伝子多型解析

ゲムシタピンの単剤投与を受けたステージ IV の肺癌患者73名 (First study) を対象に生存解析を行い、肺癌の進行度を表す指標の他に、ゲムシタピンの解毒代謝酵素 CDA の活性と関連する PK パラメータや遺伝子多型、血漿中 CDA 活性が生存期間と関連することが明らかになった。血漿中 CDA 活性が低いと生存期間が延長することは、First study とは別個のゲムシタピンの単剤投与を受けたステージ IV の肺癌患者98名 (Second study) を対象にした検討においても確認された。

h) 日本人がん患者におけるオキサリプラチンの薬理ゲノム学的解析

昨年度に引き続き、オキサリプラチン服用患者のゲノム DNA を用いて、未解析の遺伝子に関し、シーケンシング及びタイピングによる多型解析・ハプロタイプ解析を行った。国立がん研究センターより、一部の患者臨床情報を受領した。

i) パクリタキセル・カルボプラチン併用投与患者のメタボロミクス解析

継続してパクリタキセル・カルボプラチン併用投与患者血漿を用いたメタボローム解析を行い、結果のまとめを行った。

j) その他の抗がん剤の薬理ゲノム学研究

イリノテカン、パクリタキセル、5-FU、セツキシマブ投与検体に関しても、遺伝子多型解析及びハプロタイプ解析を継続した。また網羅的な遺伝子多型解析結果と有効性及び副作用発現との関連について解析した。

k) メタボローム情報に基づく創薬標的の網羅的探索および薬剤応答性に関する研究

6カ所のナショナルセンター及び慶應義塾大学との共同研究として、死亡率が高い、または国民罹患率が高く経済的な損失をもたらしている主要11疾患を対象に、生体内代謝物質の総体であるメタボロームの解析を行い、症状等の表現形質発現に直結する生体内代謝物変動を指標に、新規の創薬標的・診断マーカー候補および薬剤反応性マーカー候補となる代謝物・代謝経路を同定する。今年度は脂質の網羅的同定・定量系を確立し、さらに拡張型心筋症モデルハムスターの心筋組織を用いて、発症と関連する代謝物の同定を行った。

3. 医薬品の副作用機序の解明と予測等に関する研究

a) 遺伝子多型の機能解析及びタイピング法の開発

薬物—薬物相互作用における多型の影響を評価するため、CYP3A4の2種の遺伝子多型に関し、ミダゾラム1'位水酸化活性に対する数種の薬剤の阻害効果を解析した。またグルタチオンS-転移酵素のハプロタイプタグ多型に関し、迅速タイピング系を開発した。

b) CYP2C9の構造—活性相関に関する研究

CYP2C9の3種の遺伝子多型に関し、グリブドを基質として活性測定を行った。また、2種の多型に関し、大腸菌を用いた大量発現のためのベクターを構築した。

c) 酸性糖タンパク質の遺伝子多型同定と機能解析

パクリタキセル (PTX) 投与患者において、血清AGP値ならびにPTX薬物動態と相関するORM遺伝子上流領域における多型を見出した。また、この多型による発現影響を調べるためのin vitro解析系の構築を開始した。

d) バイオ医薬品の免疫学的副作用の評価技術の開発に関する調査・研究

抗体医薬品の免疫原性およびインフュージョン反応等の免疫学的副作用の評価試験系を作成するためのガイドライン調査およびヒト血液細胞等を用いたインビトロ試験法開発に関する基盤的調査・研究を行った。

e) 医薬品(候補化合物)の新規in vitro感作性試験法の開発

ヒト培養細胞を用いてアレルギー陽性化合物の感作性検出に関する種々の検討を行った。皮膚感作性試験法であるhuman Cell Line Activation Test(h-CLAT)が医薬品に対して適用可能かどうか検討する目的で、アレルゲン性のあることが知られているペニシリン類であるアンピシリンおよびペニシラミンを用いてh-CLATを行った。その結果、いずれも陽性判定を得た。また、h-CLATにおいてミエロペルオキシダーゼ(MPO)で代謝される医薬品への適用を目指して、MPOを安定的に発現する新規THP-1細胞株を遺伝子導入により樹立した。

f) ヒトiPS細胞による安全性評価系の開発

本研究では、医薬品(候補化合物)の安全性評価にiPS細胞を活用するために、iPS細胞の特性を解析し、細胞の状態を的確に把握するための指標を策定し、細胞の状態や変化を簡便に測定するための基盤情報・技術の確立を目指す。iPS細胞の肝細胞への分化誘導に伴う細胞形態変化、網羅的遺伝子発現プロファイル、薬物代謝酵素活性や酵素誘導に関して解析し、分化評価手法としての有用性が確認された。また、iPS細胞株およびiPS細胞樹立予定株の遺伝的バックグラウンドの一部を8遺伝子(CYP2D6, CYP3A7, SLCO1B1, SLC22A2, ABCB11, ABCC1, ABCC

4, ABCB1)中の21多型に関して解析した。その結果、CYP2D6, SLC22A2, ABCB11, ABCB1に関しては各細胞株いずれも活性に影響を及ぼす可能性のある多型を有していることが判明した。

g) フラグメント分子軌道法によるタンパク質—医薬品相互作用解析手法を用いた重篤副作用発症機構の解明  
重症薬疹発症の機序を解明するため、特定のHLA分子と原因医薬品との相互作用親和性に関する研究を開始した。

4. システム開発と分析法の解析・評価手法に関する研究

a) イノベーション基盤シミュレーションソフトウェアの研究開発

文部科学省「イノベーション基盤シミュレーションソフトウェアの研究開発」プロジェクトでフラグメント分子軌道法に基づいたバイオ分子相互作用シミュレーターの研究開発を行った。

b) 所内基盤ネットワークシステムの維持管理

平成19年度に構築した、国立医薬品食品衛生研究所ネットワーク(NIHS-NET)システムの維持管理を行った。また、ネットワークセキュリティ監査を実施し、セキュリティ強化のための対策を行った。

5. その他の研究

a) 周産期母子の薬物治療の安全性(妊娠と薬情報センター事業における授乳と薬関連の業務)

授乳婦に対する薬物療法の安全性に関するエビデンスを収集する目的で、周産期授乳婦に投与される機会の多い薬物について、母乳への分泌を含む母体における薬物動態を検討している。平成22年度は、引き続き、成育医療センターよりエチゾラム及びロキソプロフェンを服用した授乳婦の血液と母乳及びその新生児の血液試料を受け入れた。エチゾラム及びロキソプロフェンの分析法を確立するとともに、これまでに集積した5組の母子のエチゾラムの試料及び4組の母子のロキソプロフェンの試料の測定を行った。エチゾラムのRID(relative infant dose)は平均3.16%、ロキソプロフェンのRIDは1%以下とともに低く、母乳を通じて薬物が新生児に摂取される量は少ないと考えられた。また、このことは、これらの薬物の新生児における血中濃度が低かったことから確認された。

## 安全性生物試験研究センター

センター長 西川 秋 佳

## 試験・研究業務

安全センターの試験・研究業務は、1) 医薬品関連(麻薬・劇毒物等ならびにワクチン等をも含む関連物質の安全性評価とGLPの審査業務)、2) 食品・食品添加物関連、3) 農薬・残留農薬関連、および、4) 生活化学物質を含む新規ならびに既存の化学物質に関わる安全性評価(リスク・アセスメント)と、それら全般に亘る試験手法の開発・改良やリスク管理に関連する諸課題への対応業務によって構成されている。

医薬品関連については、安全センターは平成16年4月に発足した医薬品医療機器総合機構の審査担当部門の事前審査等に、過去7年にわたって内部審査の形で協力してきた。GLPの審査は、医薬品GLPと医療機器GLPのそれぞれで審査が進んでおり、医薬品のGLPで調査成績が向上していることと相俟って、医療機器GLPについても次第に普及が進んでいる。医薬品の安全性にかかる研究業務としては、西川安全センター長を研究代表者とした「小児用医薬品開発のための幼若動物を用いた非臨床安全性試験の実施方法及び医薬品開発加速のための臨床試験における初期投与量の算定基準等に関する研究」によって、「小児用医薬品のための幼若動物を用いた非臨床安全性試験ガイドライン(案)」及び「治験対象医薬品のヒト初回投与試験のリスクの低減に関するガイダンス(案)」が作成された。平成23年度においても、研究が継続され、当該ガイドライン及びガイダンスの解説書作成にあたることになっている。

食品・食品添加物関連では、恒例となった第8回食品安全フォーラムが河村食品添加物部長を世話人として「食品中の化学物質とリスク」を巡る関連のトピックが取り上げられ、11月22日に長井記念ホールで開催された。なお、平成23年度の第9回食品安全フォーラムは、西川安全センター長を世話人として開催される。また食品・食品添加物の安全性評価については、本年度は国際汎用香料(イソキノリン、ビタミンU、ピロール)、既存添加物(キダチアロエ抽出物、クワ抽出物、カワラヨモギ抽出物、プロポリス抽出物)、指定添加物(過硫酸アンモニウム、チアミンラウリル硫酸塩、パラオキシ安息香酸ブチル、メチルヘスペリジン、食用赤色40号、食用赤色102号)及び健康食品(ミルラ)の評価が行われた。消除品目をのぞく品目については、引き続き報告書の作成が進んでいる。

農薬・残留農薬関連での安全性評価業務(いわゆる農薬安評)は、食品安全委員会の所掌に移行したが、当・

安全センターの専門家は引き続き、日夜これに協力している。また、JECFA/JMPR関連の国際調整会議への当センター専門家の貢献は、高く評価されている。その他、食品安全委員会の評価の対象とならない街路樹などに用いられる非食農薬の安全性評価業務は、環境省の所掌として別途審査が行われており、引き続き当安全センターの専門家が協力して進められている。

生活化学物質関連では、平成15年4月より行われている経産・環境・厚労の三省による化学物質の化審法合同評価は、分解性・蓄積性、スクリーニング毒性試験、および遺伝毒性にかかる(Q)SARのデータの試行的提示などを含めて、順調に進行している。平成20年度中に見直し作業が行われた化審法の改訂に引き続き、同ガイドラインおよび生殖発生関係のガイドラインが改訂された。ナノマテリアルの安全性評価については、総合評価研究室、毒性部及び病理部にて本省試験研究費、厚生労働科学研究費補助金などによる研究が引き続き進行中である。なお、トキシコゲノミクス関連では、世界最大規模のトキシコゲノミクスデータベースが平成23年2月25日から基盤研ホームページより公開され、基盤研主催の第2期発表会が2月28日、長井記念ホールにて開催された。

調査業務としては、種々の国際機関(ICH, OECD, JECFA, JMPR, IPCS, ICCR, いわゆるVAM組織の活動、等)での各々の行政関連国際活動に対応したリスクアセスメント業務が行われている。WHO/IPCSによる遺伝毒性評価手法の国際標準化に関する会議へも、当センターから専門家が対応している。また、宇宙航空研究開発機構(JAXA)が仲介する宇宙空間に打ち上げて実験される物質の安全性に関する文書評価(助言)については、昨年度より安全センターの非公式所掌業務として受け入れ、協力している。

## 業務活動総括

当・安全センターの試験・研究・調査の各業務の目的は一言にしていえば、種々の化学物質の安全性評価である。このため安全センターの各部では、昨年も記したように先端技術の導入をも含む安全性評価手法改善の努力が不断に続けられている。因みにマイクロアレイを応用した一般化学物質に標的をあてたトキシコゲノミクス研究などもその1例であり、これに伴って毒性オミクス担当室の活動が進むなど日々新たな進展が展開している。

なお、当所の府中市への移転・移築については、平成26年度竣工の目途で府中市への折衝や移転計画が進行中であったが、当所の移転地域の北部分の国家公務員宿舎の建設計画が凍結となったことに伴って、待機状態が続いている。

## 人事と研究交流等の行事

最後に安全センターの人事では、小川久美子病理部長が平成22年12月1日付けにて就任した。平成23年5月末現在の当センターの構成は、室数が平成17年10月の薬理部の新規試験法評価(JaCVAM)室の1増、および平成18年10月の毒性部における毒性オミクス室の1増、他方平成16年4月の変異遺伝部細胞バンクの基盤研への移行に伴う1減以来増減はなく、4部、1省令室、16室となっている。5月末現在、センター長1、部長4、省令室長1、室長16、主任研究官17、研究員10(再任用を含む)、動物飼育長1(再任用)で、客員研究員16名を合わせると66名である。加えて、協力・流動研究員14、研究生・実習生15および技術・事務補助員32名の他、10名の短時間勤務職員等が在籍しており、総計は137名である。安全センターは、平成15年前後の人事の凍結が解除され徐々に欠員の補充がなされつつあり、18年中半以降は16室体制となっているが、変異遺伝部の1室減の回復や毒性部動物管理室の省令室化、総合評価研究室のさらなる増員などに課題を残しており、引き続いてセンターの希求する将来へ向けてこれらの実現が期待されている。なお、次年度より、JaCVAMの体制を強化するため、安全センター全体が運営委員会に主体的に参画することが決定されている。

研究交流等の招聘事業としては、本年度は、6月28日に米国ミネソタ大学のMingyao Wang博士を迎え、セミナーを開催した。また、10月5日には米国NIEHSでICCVAM事務局を担当しているWilliam Stokes博士、10月7日にはILSI/HESIの事務局長のMichael Holsapple博士が来所し、安全センターの部長等と懇談した。

当センターからの海外出張・国際会議への出席については、今期も厚生労働省・文部科学省等の関連予算による、種々の国際機関での行政関連会議(ICH, OECD, JECFA, JMPR, IPCS等)あるいは各種学術関連集會等に対して、安全性センターを構成するメンバーによる積極的な参加がなされた。それらについては各部の報告に記載されるのでここでは省略する。なお、本年度センター長は、スペインのバルセロナ市で開催された第12回国際トキシコロジー学会(7/19~23)に発表者として出席したほか、ハンガリーのブダペスト市で開催された第8回欧州毒性病理学会(9/28~10/1)及び米国ワシントンDCで開催された第50回米国トキシコロジー学会(3/6~10)に出席し、それぞれ安全センターの学術研究活動の一部を発信した。また、中国薬品生物製品検定所設立60周年記念式典(9/26)に西島所長及び本間変異遺伝部室長とともに参列し、引き続いて開催された中国薬品生物製品検定所とILSI/HESIとの合同ワークショップにも参加した。

## 毒性部

部長 菅野 純

### 概要

安全性生物試験研究センター毒性部の所掌業務は、医薬品、医薬部外品、化粧品、医療機器又は衛生材料、一般化学物質(毒物・劇物)、農薬、殺虫剤、家庭用品、容器包装等の生活関連化学物質、食品や食品添加物などに加え、実験動物の開発と飼育管理、これらに必要な各種の研究、時宜に応じた安全性調査・リスクアセスメント、並びに必要な毒性試験法開発研究、等であり、これらを下から支える毒性発現機構の解明と安全性予知技術の開発のための基盤研究を加えて、センター内はもとより、所内関連部署及び厚生労働省との連携のもと、これらを遂行している。平成18年10月1日付けにて、毒性部第五室(所掌:先端生命科学技術を取り入れた分子毒性学的試験及びこの研究に関すること)が室長1名とともに認められ、Percellome トキシコゲノミクス等を基盤とする分子毒性学の応用体制を整えつつあり、これらの基盤研究の上に、近年では新開発物質(ナノマテリアル等)対応を含む安全性評価のための毒性学分野の諸試験の開発、化学物質の複合暴露の分子応答解析研究、シックハウス症候群レベルの吸入暴露による中枢神経影響の解析、子ども問題への再着手など、新旧の問題への新規対応支援を実施している。他方、乱用薬物研究は研究所の方針により平成21年度で終了することとなった。

人事面では、平成22年9月1日付けで大久保佑亮博士を研究員として迎え、第3室に加わった。平成22年10月1日付けにて、堀井郁夫博士(昭和大学薬学部客員教授)を毒性部客員研究員として受入れ、研究指導を仰ぐこととなった。平成23年3月31日付けで、関田清司動物管理室長が定年退職した(尚、後任に小川幸男第1室長が翌4月1日付けで就任した。また、高橋 雄主任研究員が第4室長に昇任し、併せて、相崎健一第2室長が第1室長に、平林容子第4室長が第2室長に異動した)。また、斎藤 実研究員(再任用短時間勤務職員)が平成23年3月31日付けにて、安東朋子研究補助員が平成22年6月30日付けにて、松坂俊輔研究補助員が平成23年2月28日付けにて退職した。

業務関連での海外出張では、菅野 純毒性部長が、OECD/EDTAの内分泌かく乱化学物質の試験及び評価に関する第一回アドバイザーグループ会合(5月16日~19日、フランス・パリ)への出席、第12回国際トキシコロジー学会における国際トキシコロジー連盟運営委員会への出席と研究成果の発表(7月17日~7月25日、スペイン・バルセロナ)、第11回国際システムバイオロジー

学会への出席と研究成果の発表（10月9日～15日，英国・エジンバラ），第50回米国トキシコロジー学会学術年会（3月3日～11日，米国・ワシントンD.C.）における研究成果の発表を行い，同時開催の国際トキシコロジー学会連合運営委員会（現在，同副会長）へ出席した。

平林容子第4室長が，日米欧の医薬品に関する規制の国際協調タリン会議（6月5日～12日，エストニア・タリン），第12回国際トキシコロジー学会（7月18日～24日，スペイン・バルセロナ），幹細胞に関するキーストンシンポジウム（1月29日～2月6日，米国・サンタフェ），第50回米国トキシコロジー学会（3月5日～13日，米国・ワシントンD.C.）への出席と発表を行った。

安彦行人主任研究官が，コールドスプリングハーバー研究所学術会議（10月26日～31日，米国・ローレル・ホロー），キーストン学術集会（2月27日～3月4日，米国・タホ市）への出席と発表を行った。

五十嵐勝秀主任研究官が，第50回米国トキシコロジー学会（3月6日～10日，米国・ワシントンD.C.）に日本トキシコロジー学会からの依頼（教育講演準備）を受けて出席した。

## 試験業務

### 1. 既存化学物質の毒性試験

化学物質リスク評価の基盤整備としてのトキシコゲノミクス研究の成果を受け継ぎ拡充しつつ，毒性分子メカニズムに依拠した毒性予測評価システムの実用化の最終段階として，平成21年度より「化学物質の有害性評価手法の迅速化，高度化に関する研究－網羅的定量的大規模トキシコゲノミクスデータベースの維持・拡充と毒性予測評価システムの実用化の為のインフォマティクス技術開発－」（厚生労働科学研究費補助金）を実施しているが，本研究により新たに開発された解析技術を応用した，化学物質の毒性評価・予測の試行を一部において開始した。加えて，シックハウス症候群を考慮した高精度な極低濃度吸入毒性の評価システムを構築することを目的とした「化学物質の経気道暴露による毒性評価手法の開発，高度化に関する研究」（厚生労働科学研究費補助金）という先行3年間の研究成果を踏まえ，平成20年度より「化学物質の経気道暴露による毒性評価の迅速化，定量化，高精度化に関する研究－シックハウス症候群レベル低濃度暴露を考慮した吸入トキシコゲノミクスを核とする評価体系の開発－」（厚生労働科学研究費補助金）を開始し，暴露条件の設定が比較的難しい昇華性あるいは難揮発性の化学物質，具体的には平成20年度はパラジクロルベンゼンおよびテトラデカン，21年度はクロルピリフォス，22年度はフェノブカルブ，ダイアジノンにつ

いて，それぞれ室内濃度指針値を参考に決定した極低濃度にて，フェノブカルブは2時間単回吸入暴露，ダイアジノンは6時間を7日間，及び22時間を7日間吸入暴露し，経時的にサンプリングしたマウス肺・肝について網羅的遺伝子発現変動解析を実施し，それぞれの遺伝子発現プロファイルの特徴を明らかにした。その結果，病態の惹起或いは生体防御の発動を示唆する影響が高感度に捕捉され，これまで指摘されてきた従来の動物試験での症候検出可能濃度と，人に於いて報告される症候発現濃度に隔たりがあるという課題を遺伝子発現解析手法が克服しうることが示された。

さらに平成23年度より，先行6年間の研究成果を踏まえ「化学物質の経気道暴露による毒性評価の迅速化，定量化，高精度化に関する研究－シックハウス症候群を考慮した低濃度暴露における肺病変の確認，及び，中枢神経影響を包含する新評価体系の開発－」（厚生労働科学研究費補助金）を開始し，極低濃度の長期暴露時（7～28日間）の肺を高精度に解析し，先行研究の遺伝子発現変動データの予見性を確認すること，及びシックハウス症候群等において倦怠感・疲労感等の「不定愁訴」の分子実態を把握することを目的として，先行研究での評価系を中枢影響評価と多臓器連関を包含するかたちで発展させ，肺・肝に加え中枢神経のトキシコゲノミクス解析を実施している。

### 2. 食品及び食品添加物の毒性試験

食品添加物に関して，3品目についての慢性/発がん性併用試験，1品目の繁殖試験，催奇形性試験，1品目の肝臓病理組織追加試験，および10品目の90日間反復投与毒性試験を継続実施あるいは開始した。加えて，マイクロアレイ技術等を利用し，既に使用が認められている指定添加物等について安全性確認に資するデータを得ることを目的として，平成21，22年度共に各々3品目について検討した（食品安全部基準審査課）。

### 3. 医薬品及び医用材料の安全性に関する試験

#### 1) 毒・劇物指定調査のための毒性試験

2 化学物質について，*in vitro* 皮膚腐蝕性試験，ラットによる急性経口毒性試験，急性経皮毒性試験を実施した（化学物質安全対策室）。

## 調査業務

### 1. 化学物質及び食品などによる健康リスク評価

#### 1) 内分泌関係

内分泌かく乱化学物質（ダイオキシン類を含む）の胎児・新生児暴露に於いて，受容体原性毒性のメカニズムに基づくと理解される低用量影響が神経－内分泌－免疫系にまたがること，それを含めた作用の検出の為の「確定試験」として一生涯（発生，発達，成熟，

老化)の全ての段階に於いて懸念される毒性指標を網羅的に確認する「齧歯類一生涯試験法」を提案し、その開発とその支援基礎研究としての分子毒性メカニズム研究を実施している。

この詳細試験は、厚生労働省の内分泌かく乱化学物質・試験スキームに則り、内分泌かく乱性を検討する必要がある数十万種の対象化合物について、ホルモン活性に焦点を置いたスクリーニング手法の開発と確立と詳細試験に資する優先リストの作成を進めることと並行して実施するものである。

また、この問題の国際協力の重要性を考慮し、OECD対応を含む内分泌かく乱化学物質問題対応の国際及び国内で進められている試験法策定の作業に関わり、研究成果に基づいて作業に貢献した。経済協力開発機構/内分泌かく乱化学物質の試験と評価に関して新たに組織されるアドバイザーグループの専門委員としてOECDの要請等に基づき登録され、第一回委員会に招聘された。厚生労働省を含む日本における内分泌かく乱化学物質問題のうち、ヒト影響に関する現状と展望を報告し、OECDガイダンスドキュメントの作成方針について論議を重ねた。環境影響については、環境省サイドのメンバーが担当した。ガイダンスドキュメント完成に向け、討議が継続されている。

## 2) 化学物質の安全性評価

化学物質審査規制法(化審法)に基づき産業用途などに用いられている化学物質のうち、これまで我が国で製造、輸入が行われたことがない新規化学物質、または生産量が多いにもかかわらずこれまでに十分な安全性評価が行われていない既存化学物質について、ラットにおける28日間試験、反復投与毒性・生殖発生毒性併合試験及び簡易生殖試験の結果における毒性の有無と無影響量をもとに、第二種監視化学物質や特定化学物質に相当するかについて安全性評価のための調査を行った。また、化審法改正に伴い新たに導入される優先評価化学物質選定のためのスクリーニング評価の具体的な手法について提言を行い、第二種監視化学物質が優先評価化学物質に相当するかをスクリーニング評価するための調査を行った。

## 研究業務

### 1. 毒性試験法の開発に関する実験的研究

#### 1) 化学物質リスク評価の基盤整備としてのトキシコゲノミクスに関する研究

日本におけるポストゲノム毒性学のセンター的役割を担うべく、基礎的研究から応用研究開発まで幅広い活動を行っている。既に内分泌シグナルや発生・分化、発がん、肝毒性、肺の低濃度暴露影響時、中枢神

経系等における遺伝子発現プロファイルを得、新たに見いだされた関連遺伝子情報を基に基礎的研究を行っている。

平成22年度は、多数の既存化学物質を可及的速やかにより正確、安価に評価するための基盤研究を継続実施し、第一期「化学物質リスク評価の基盤整備としてのトキシコゲノミクスに関する研究」(平成15~17年度)および第二期「化学物質リスク評価の基盤整備におけるトキシコゲノミクスの利用に関する研究-反復暴露影響及び多臓器連関性(発達過程を含む)に重点を置いた解析研究-」(平成18~20年度)の成果を受け、「化学物質の有害性評価手法の迅速化、高度化に関する研究-網羅的定量的大規模トキシコゲノミクスデータベースの維持・拡充と毒性予測評価システムの実用化のためのインフォマティクス技術開発-」(厚生労働科学研究費補助金)の研究計画を遂行した。これは、先行研究に於いて構築した約100種類の化学物質を対象にした単回(急性)暴露マウス肝トキシコゲノミクスデータベース、反復(慢性)暴露データベース、多種臓器間の連関性を検討するトキシコゲノミクスデータベース等に基づいて、大量データから生物学的に有意な情報を効率的に抽出し、毒性ネットワークを描出するためのインフォマティクス開発研究を行って、安全性評価に於けるトキシコゲノミクスの実用化に向けた研究の最終段階に着手するものである。遺伝子改変マウスにおける化学物質投与によるトランスクリプトーム変動の解析など、毒性ネットワーク描出に必要な特殊データを取得・解析しつつ、独自開発した解析プログラムの改良を進め、抽出精度・効率を向上させると共に、部分的な遺伝子発現ネットワークの自動描出にも成功しつつある。またNTTデータ・日本テラデータと共同実施してきたデータベース解析に関する研究の第九段階を実施し、マイクロアレイ測定における飽和問題およびクロスハイブリダイゼーション問題等の系統誤差を補正する基礎理論の開発と実用化を行い、特許を申請した。

#### 2) タール色素等毒性試験法のための研究

毒性プロファイルを精査する為の遺伝子発現変動解析を実施し、もって健康被害の未然防止の観点から「タール色素」の安全性確保を図ることを目的として、平成22年度は「緑色204号」(ピラニンコンク)に関し、マウスに強制単回経口投与した際の肝における網羅的遺伝子発現変動解析を検討した(医薬食品局審査管理課)。

#### 3) ナノマテリアルの安全性評価に関する調査研究

フラーレンの腎障害性を調べるため、雄C57BL/6マウスにフラーレンを3mg/animalの用量にて単回

腹腔内投与し、慢性毒性試験を遂行した。繊維状物質の aspect ratio の差が悪性中皮腫誘発へ及ぼす影響を明らかにすることを目的に、純粋な炭素からなり、長さの異なるフラーレンナノウィスカー (FNW) の焼結体を雄 p53+/-マウスに単回腹腔内投与し、観察期間1年間の発がん性試験を開始した。ナノマテリアルのヒト健康影響の評価手法に関する総合研究では、MWCNT を気管内投与したラット肺のマイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析を行い、炎症、免疫に関連する多くの遺伝子発現増加を確認した。さらに、MWCNT のダスト発生装置及び吸入暴露装置の開発研究を行い、環境保全型動物飼育棟に設置した。また、吸入暴露による健康影響の評価のため、酸化金属系ナノマテリアル (酸化チタン) 及びフラーレン、カーボンナノチューブに焦点を当て、暴露情報および吸入暴露実験に関する各国の情報、文献情報等の公開情報を収集・整理した (厚生労働科学研究費補助金)。

#### 4) 毒性オミクスによる化学物質安全性確保の国際的動向に対応した緊急整備研究

行政対応に耐えうる実用性を備えた毒性オミクスシステムの構築を目的として、当毒性部で得られた毒性オミクス情報を元に、網羅性、定量性、再現性、互換性の向上に必要な基本的精度管理研究、毒性評価に必須な IT システムの開発研究に加えて、多臓器に関する毒性ゲノミクス研究 (反復暴露を含む) の実験体制の確立ならびに情動認知毒性への応用を考慮した基礎的検討を継続した。

#### 5) 化学物質の複合暴露による健康リスク評価に関する分子毒性学的研究

中央環境審議会からも指摘され、一般の関心・不安も高いところの、環境中における化学物質の複合暴露の健康リスクについて、トキシコゲノミクスによる分子毒性学的な有害性評価検討手法により、網羅性と定量性をもって複合影響の分子メカニズムの解明を可能とする基盤を構築するための研究を開始した (環境研究総合推進費)。

## 2. 恒常性維持機構に関わる内分泌系・免疫系・神経系に関する研究

### 1) 内分泌かく乱化学物質の作用機序と検出系の確立に関する研究

(1) 内分泌かく乱化学物質による遺伝子発現変動を網羅的に解析する基盤として構築したマウス成体雌性周期変動に伴う視床下部、下垂体、卵巣、子宮、膣の網羅的遺伝子発現データベースと、生後発達に伴う卵巣、子宮の網羅的遺伝子発現データベースを参照し、Estrogen receptor alpha (ER $\alpha$ ) の cDNA を

ノックインしたマウスの妊娠維持不良のメカニズムを解析した。ノックインマウスでは ER $\alpha$  発現量が約 1/5 に低下しており、子宮内膜が分娩時に近い状態にあることが示唆された。

(2) Bisphenol-A (BPA) の 5 及び 50 $\mu$ g/kg を SD ラット妊娠 6 日目～離乳期 (PND20) まで母動物に強制経口投与し、雌性児の晩発影響について視床下部、下垂体、卵巣、膣及び乳腺等を詳細に検査した。その結果、BPA 投与群の 6 ヶ月齢において性周期異常の誘発が再確認され、卵巣重量の低値、卵胞嚢胞の形成及び黄体形成不全のほか、血清 LH 値、FSH 値、プロラクチン値、E2 値の変動等の背景所見が得られた。引き続き視床下部のキスベクチンニューロンに焦点を当て、Kiss-1 遺伝子発現等について解析を進める。

(3) 内分泌かく乱化学物質の神経系分化に対する影響を検討する目的で、マウス胎児脳細胞を分離・初代培養 (ニューロスフェア培養) して得られる神経幹細胞を対象とした解析を、細胞増殖、RNAi による特異的遺伝子発現抑制、分化マーカー発現定量等を用い継続実施した。グルココルチコイド受容体の胎生 14 日由来胎児神経幹細胞における機能を解析した。その結果、グルココルチコイドが神経幹細胞にアストロサイトマーカーの GFAP を誘導する作用があることが判明した。

(4) 毒性発現メカニズムに支えられた新たな中枢神経系を主対象とした神経行動毒性評価系を確立する目的で、マウスに、オープンフィールド試験、明暗往來試験、条件付け学習記憶試験、及びプレパルス驚愕反応抑制試験からなる行動解析バッテリー試験系を適用し、クロルピリホス、あるいはカルバリル等の有機リン系農薬投与による脳高次機能への遅発影響の解析を実施した。並行して投与直後の遺伝子発現変動を明らかにする目的で海馬等の Percellome 解析を実施し、遅発影響解明に関連する発現遺伝子リストを得た。

(5) エストロゲン受容体の神経系に関する知見を個体レベルで調べ、神経内分泌障害性化学物質の作用機序解明の一助とするため、複数種のエストロゲン受容体遺伝子改変マウスの行動解析を行った。また、それと並行して神経伝達物質調節機構への影響を検討するとともに脳構造解析を実施した。さらに脳の Percellome 遺伝子発現解析を実施した。

(6) ドーモイ酸による遅発性の記憶毒性の発現メカニズムを解明する目的で、マウス条件付け学習記憶試験を行った。その結果、早期に生じる場所-連想記憶障害に加えて、遅発的に顕在化する音-連想記憶

障害の存在を見いだした。現在、軸索構成タンパク影響を検討中である(科学研究費補助金(日本学術振興会)基盤研究B)。

- (7) 社会性形成モデルとしてマウスを用いて、集団化に対応して学習記憶能が向上することを見いだすとともに、それにとまなう遺伝子発現様式を解析した。(科学研究費補助金(日本学術振興会)挑戦的萌芽研究)。
- (8) エストロゲン受容体の神経系に関する知見を個体レベルで調べ、神経内分泌障害性化学物質の作用機序解明の一助とするため、エストロゲン受容体 $\alpha$ ノックダウンマウスの行動解析を行った。また、それと並行して神経伝達物質調節機構への影響を検討するとともに脳のPercellome遺伝子発現解析を実施した。さらに、神経細胞突起影響を形態学的に検討した。
- (9) 内分泌かく乱化学物質の作用解明のために、東京大学と共同で破骨細胞に対するエストロゲン作用解析を行い、エストロゲンが個体内で破骨細胞にFas ligandを誘導し、破骨細胞をアポトーシスに導くことが明らかとなった(CELL誌に発表)ことを受け、骨芽細胞での作用解明に着手した。
- (10) マウス胚幹細胞を用い、内分泌かく乱化学物質としてBPAの影響についてマイクロアレイ法を用いて解析した。その結果、long non-coding RNAの増加を確認した。この遺伝子を中心にさらに解析をすすめている。

### 3. 胎児、新生児、子供の健康に関する研究

#### 1) 胎児・発生障害に関する基礎的研究

- (1) Dll1遺伝子座にDll3遺伝子をノックインしたマウスの表現型を解析した結果、ホモ胚では体節形成の異常が回復せず、またDll3を過剰に発現するヘテロ胚では脊椎骨の形態に異常が観察された。これらのことから、Dll3はDll1の機能を代替するリガンドではなく、Notchシグナルに対する調節因子であることがわかった。さらにホモ胚では体節が形成されないにもかかわらず、脊椎骨の椎体には分節性がみられたことから、Notchシグナル以外の機構の関与が示唆された。同様に体節が形成されないMesp2ノックアウトマウスについても解析中である。体節後半部で $\beta$ -ガラクトシダーゼを発現するTg-Uncx4.1マウスと交配して、体節の発生運命を解析した結果、体節が形成されないMesp2ノックアウトマウスにおいても、脊椎骨の椎体と椎間板の繰り返し構造が形成されることがわかった。
- (2) 体節特異的に発現する転写因子であるMesp2遺伝子の発現が、転写因子Tbx6依存的に制御されて

いること、またそれに対する抑制的なシグナルとしてT (Brachyury), Mesogeninといった遺伝子が作用していることを明らかにした。またこの機構の概略は、魚類からほ乳類まで共通することを明らかにし、いずれも国際学会において発表を行った。

- (3) サリドマイドに感受性を示すマウス胚内の遺伝子を標的としたアザラシ肢症発症の種差に関する研究(科学研究費補助金(日本学術振興会)基盤C)

ヒトで催奇形性を示すがげっ歯類では示さないサリドマイドの分子種差を詳細に明らかにすることを目的とし、以って、その有効薬剤としての多標的性と安全性を両立した新規誘導物質の設計に寄与するとともに、現行のウサギなどを用いた催奇形性評価の近代化に資するための検討を、サリドマイドを経胎盤単回投与した際の胚肢芽について、網羅的に遺伝子発現変動を解析することで検討している。

平成22年度はサリドマイド(0, 1,000mg/kg)を妊娠10日のマウスに経胎盤単回投与し経時的(投与2, 8及び24時間後)に得られた胚後肢・肢芽RNAサンプルについて網羅的に遺伝子発現変動を解析し、得られた遺伝子リストについて、その機能の妥当性並びに関係するシグナルネットワークを検討した。

#### 2) 化学物質による子どもの健康影響に関する研究

- (1) 化学物質による子どもへの健康影響研究用に構築したマウス胎児脳発達に伴う遺伝子発現変化のデータベースを活用し、DNAメチル化阻害物質アザシチジンに妊娠マウスに投与し、胎児脳における網羅的遺伝子発現を解析した。その結果、インターフェロン応答が惹起されることを見出し、その生理学的意義を神経幹細胞を標的にした検討を開始した。
- (2) 「化学物質の情動・認知行動に対する影響の毒性的評価法に関する研究」研究班(厚生労働科学研究費補助金)の分担研究として、化学物質による子どもの神経系への影響に関する研究を遂行する目的で、脳形成・発達過程における神経伝達物質シグナルの外因性かく乱による脳障害に関する研究を実施した。特に幼若期マウスへのグルホシネート投与による神経系への影響について検討した。

### 4. 発がん性研究や幹細胞系を含む分裂細胞系関連の研究

- 1) 化学物質や放射線による細胞障害機構に関する研究(科学研究費補助金(日本学術振興会)基盤研究C)

網羅的遺伝子発現解析法を用いて、化学物質などの異物と生体との相互作用に起因する広範な対象を念頭に包括的な遺伝子発現影響を毒性発現スペクトラムとして捉え、メカニズムや標的の評価も視野に入れ多面

的な毒性の評価を可能とする予知技術を確立するための解析を進めている。障害性誘発モデル物質として、放射線及びベンゼンなどヒトでの白血病原性の知られる物質に注目し、酸化ストレスに対する過剰反応モデルマウスや、耐性モデルマウスなどを用い、野生型との定常状態や、処置後の遺伝子発現プロファイルの比較検討を逐次進めている。これまでの結果から、生体の異物に対する応答としての網羅的遺伝子発現変化が、個体や個体を構成する細胞ごとに決定論的に共通して応答する遺伝子群とは別に、個体ごとあるいは構成する細胞ごとに異なった多様な応答シグナルに沿って発現するストカスティック・シグナルが存在することを作業仮説として検討を進めている。

2) 造血幹細胞維持機構/生体異物相互作用の場としてのいわゆる造血幹細胞ニッチを介した活性酸素障害発現機構に関する研究(科学研究費補助金(日本学術振興会)基盤研究C)

生体は高用量の活性酸素を消去する機構を備えて初めて生存が可能となったが、他方、低用量反応としての酸化ストレスに対する生体応答は、種々の転写因子の遺伝子発現調節に関わり、生体の調節維持機構として必須の役割を担っていることがわかってきた。ここでは、造血幹細胞の維持機構に関する低用量活性酸素種の生理的分子機構と、その調節障害の発生に関わる分子機構を、生理機構と病的障害機構の両面から検討することを目的として、以下3点について逐次検討を進めている。1) 低酸素状態で維持される幹細胞の静止期[dormancy]における維持機構と、細胞周期内における自己複製の調節機構、2) 造血幹細胞の細胞周期静止機構の成立とこれにかかる新生児期の造血動態変化の分子機構、3) 造血幹細胞特異的細胞周期測定法と定常状態における細胞周期静止分画の酸化ストレス蓄積過程としての加齢・老化に伴う変化。未分化脾コロニー形成細胞でのみ、若齢マウスに比べて加齢個体の静止期分画が拡大していることを明らかにしているが、この背景として、Runxと協調する造血機能性転写因子Cbf $\beta$ 、epigenetic gene silencerの転写因子Trim28、Aktの抑制因子で脱リン酸化酵素のPhlpp1などの発現が加齢個体で抑制されていることを見出した。

3) 遺伝子改変動物を用いた発がん特性を含む生体異物応答に関する研究(科学研究費補助金(日本学術振興会)基盤研究C)

アリアルハイドロカーボン受容体(AhR)欠失マウスにベンゼンを暴露しても野生型で生じる造血障害が見られないことを示してきたが、新たに骨髓の網赤血球を指標としたベンゼン暴露後の小核発生頻度も野

生型の1/7に留まることを見出し、結果として障害そのものが発生していないことが明瞭となった。AhRの発現は、造血器系では造血幹・前駆細胞に局限していることから、造血幹・前駆細胞におけるAhRの制御とベンゼン暴露の影響の相互作用を遺伝子発現シグナルレベルで明らかにするために、造血幹・前駆細胞の遺伝子発現の検討を、細胞周期休止期分画と細胞周期分画の双方の、いわゆる造血幹細胞ニッチ・シグナルによるAhRの制御そのものと、ベンゼン暴露の引き起こす影響の両者から解明することを企図している。さしあたりLKS分画を幹細胞分画として、骨髓細胞における発現との差異にも着目し、解析を進めている。

5. 生体内埋設型医療機器の素材に係わる生物学的な安全性評価に関する研究—発がん性を主体とした再評価と国際調和—(厚生労働科学研究費補助金)

p53+/-マウスを用いたガラス板の背部皮下埋植実験の結果、「細菌共存環境」が埋植材料の発がんを促進することが示唆された。22年度は無菌マウスを用いて異物発がんの差異の追試を実施するとともに、術野の嚴重消毒と簡易消毒の異物発がんに及ぼす影響を調べるため、p53ヘテロ欠失マウスを用いた比較実験を遂行した。また、異物発がん機序解明に資するため、p53ヘテロ欠失マウスの背部皮下にガラス板を埋植後、10、15および20週後の組織を経時的に採取し、マイクロアレイ解析を行った。その結果、炎症・免疫応答、血管形成等に関する多くの遺伝子発現の増加が確認された。

## 薬 理 部

部 長 関 野 祐 子

### 概 要

当部では、医薬品や化学物質がもたらす有害作用から国民の健康を守るために、化学物質の体内動態、毒性発現メカニズムや、医薬品の薬効薬理や安全性薬理に関する研究業務をおこなっている。平成22年度に行った研究業務を内容から大きく分類すると、1. 有効性・安全性評価のための科学技術開発に関する研究、2. 医薬品等の中核機能に及ぼす影響に関する薬理学的研究、3. ヒトiPS細胞由来分化細胞を用いた薬理学的研究、4. 安全性試験法の公定化に関する研究、5. 医薬品等のトキシコキネティクスに関する研究、6. 医薬品等の細胞機能に及ぼす影響に関する薬理学的研究、である。平成22年より新たに開始された主な研究課題は、内閣府食品安

全委員会食品健康影響評価技術研究委託費「食品中化学物質への胎生～新生期曝露が情緒社会性に及ぼす影響評価手法の開発」(研究代表者：佐藤 薫第一室長)、保健医療分野における基礎研究推進事業「ヒト iPS 細胞由来モデル細胞(肝・神経・心筋)の作製及びモデル細胞を用いた薬剤毒性評価技術の構築に関する研究」(分担研究代表者：石田誠一第三室長)、厚生労働科学研究費補助金「ヒト由来幹細胞の安全性薬理試験への応用可能性のための調査研究」(研究代表者：関野祐子薬理部長)、「個体の成長期における神経系および肝臓系細胞の機能解析による化学物質の健康影響評価法に関する研究」(研究代表者：宇佐見誠第四室長)、「医薬品の品質、有効性及び安全性確保のための手法と国際的統合性を目指した調査と妥当性研究」(研究分担者：小島 肇新規試験法評価室室長)、「国際協調を重視した化粧品・医薬部外品における安全性試験法の再評価に関する研究」(研究代表者：小島 肇新規試験法評価室室長)、「国際協調により公的な試験法を確立するための手順に関する研究」(研究分担者：小島 肇新規試験法評価室室長)、委託研究・政策創業総合研究事業「創業支援のためのヒト肝薬物輸送と代謝を評価する安定かつ再現性に優れた細胞レベルでの試験系の提示と毒性評価への応用研究」(研究代表者：石田誠一第三室長)、「国内におけるヒト正常細胞分譲システム網の確立」(研究代表者：小島 肇新規試験法評価室室長)、一般試験研究費「麻薬関連物質の薬効とその作用メカニズムを簡便に評価する *in vitro* 実験系の開発」(担当：関野祐子薬理部長)である。また、平成22年度で終了した研究課題は、科学研究費補助金(文部科学省)「アクチンによるシナプス毛脳制御とその高次機能における役割」(研究分担者：関野祐子薬理部長)、「NADPH 酸化酵素による脂肪分化機構と生活習慣病への応用」(研究代表者：諫田泰成第二室長)である。

人事面ではまず、第一室室員である大久保聡子研究員(平成24年12月31日まで育児休暇を取得)の代替研究員であった栗脇淳一研究員が平成22年9月1日より美作大学短期大学部栄養学科の准教授として転出したため、平成22年11月1日より最上由香里博士が研究員として採用された。宮島敦子主任研究官(第三室)が医療機器部第2室室長として平成22年7月1日に昇任転出し、後任に群馬大学大学院医学系研究科助教であった入江智彦博士が採用され、平成23年3月1日より赴任し第一室に配属された。新規試験法評価室においては平成22年度の増員として、学習院大学理学部生命科学科ポストドクター研究員であった赤木純一博士を平成22年10月1日より研究員として採用した。宇佐見誠主任研究官は、平成22年8月1日付けで第四室長に昇任し、それに伴い関野薬理部長の第四室長兼任は解除された。その他の職員の異動で

あるが、非常勤職員(研究助手)として、久保 崇博士(7月1日付け、第三室)、派遣研究員として、高橋華奈子博士、片山敦子博士(共に平成22年7月1日付け、第一室)、林 和花博士(7月1日付け、第二室)、金 秀良博士(10月1日付け、第三室)が、短時間勤務非常勤研究員として新たに大津香苗氏(8月1日付け、第一室)黒田幸恵氏(10月1日付け、第三室)が、採用された。研究生として、群馬大学大学院医学系研究科博士課程一年藤枝智美氏、東京大学大学院新領域創成科学メディアカルゲノム専攻修士課程一年上野正義氏、門間和音氏、東京医科歯科大学大学院医学系研究科修士課程一年 Li Min 氏を受け入れた。第一室で研究を行っていた研究生の高木淳平氏は、慶応大学薬学系研究科修士課程修了にともない退所した。平成21年度に引き続き、客員研究員として井上和秀九州大学大学院薬学研究院教授、小澤正吾岩手医科大学薬学部教授、小泉修一山梨大学大学院医学工学総合研究部教授、および増田光輝博士を迎え入れ、協力研究員として(財)乙卯研究所の中込まどか博士を迎え入れた。

関野薬理部長は、昨年に引き続き群馬大学大学院医学系研究科の客員教授、東京大学大学院新領域創成科学研究科非常勤講師を委嘱され、関連学会では、生理学会常任幹事を昨年より引き続き行い、本年度はさらに国際放射線神経生物学会理事、日本安全性薬理研究会幹事となった。薬学会ファルマシア委員の3年任期を終え、ファルマシアアドバイザーとなった。

行政協力としては、関野薬理部長は人事院の国家公務員採用I種試験(理工IV)試験専門委員を併任した。薬事・食品衛生審議会臨時委員として、医薬品等安全対策部会安全対策調査会のディート(忌避剤)に関する検討会に出席した。監視指導麻薬対策関連業務として医薬品の成分本質に関するWG委員ならびに薬事・食品衛生審議会薬事分科会指定薬物部会委員を務めた。さらに、食品添加物安全評価検討会委員、医療器機GLP評価委員、医薬品GLP評価委員、JaCVAM運営委員として評価業務に携わった。文部科学省関係において、科学研究費補助金審査に協力し、スーパーサイエンスハイスクール運営指導委員を務めた。石田誠一第三室長は薬事・食品衛生審議会専門委員として毒物劇物調査会に参加した。宮島主任研究官は、化学物質安全性評価委員会委員、既存化学物質安全性点検事業におけるピアレビュー委員会委員、化学物質GLP評価会議委員、化審法テストガイドライン検討委員会、官民連携既存化学物質安全性情報収集・発信プログラム検討委員会、食品安全委員会の肥料・飼料等専門調査会に協力した。宮島主任研究官が転出したため、8月以降は宇佐見第四室長が化学物質安全性評価委員会委員、既存化学物質安全性点検事業

におけるピアレビュー委員会委員，化学物質 GLP 評価会議委員，Japan チャレンジプログラム報告書に係る信頼性評価業務担当（官民連携既存化学物質安全性情報収集・発信プログラム検討委員会）を引き継いだ。宇佐見第四室長は，株式会社東レリサーチセンターの受託した，平成22年度内閣府食品安全委員会事務局業務「暫定基準が設定された化学物質（農薬及び飼料添加物）に係る食品健康影響評価に関する調査」の指導として JMPR 等における農薬評価書からの，翻訳文書の該当する専門分野に対する助言を行った（平成22年12月10日～平成23年3月31日）。簾内桃子主任研究官は独立行政法人製品評価技術基盤機構化学物質管理センター安全審査課研究員を併任し，国立医薬品食品衛生研究所と独立行政法人製品評価技術基盤機構との共同研究“構造活性相関手法による有害性評価手法の開発”プロジェクトに参画した。また，小島新規試験法評価室長は医薬品医療機器総合機構の専門委員を務め，医薬品一般名称に係る専門協議に専門委員として参加し，日本薬局方「輸液用ゴム栓試験法の見直し」に協力した。また，NEDO 高機能簡易型有害性評価手法の開発「培養細胞を用いた有害性評価手法の開発」推進委員，独立行政法人産業技術総合研究所化学物質評価用発光細胞の標準化技術調査委員をつとめた。

国際協力としては，石田第三室長が日本学術振興会二国間交流事業により，昨年度に引き続きフランス国立保健医学研究所と共同研究を行った。簾内主任研究官は ECVAM および JaCVAM が参画した国際的プロジェクト“分化型ヒト肝細胞 HepaRG および凍結ヒト肝細胞を用いた *in vitro* 薬物動態・毒性評価バリデーション研究”に参加した。小島室長は OECD テストガイドラインナショナルコーディネーター，OECD-EDTA（内分泌かく乱物質タスクフォース）VMG（バリデーションマネジメントチーム）NA（非動物実験）のメンバーかつ OECD 皮膚刺激性試験専門家としてガイドラインの作成に協力し，ICH（日米 EU 医薬品規制調和国際会議），ICCR（化粧品国際規制会議）及び ICATM（代替試験法協力国際会議）の動物実験代替法バリデーション専門家として国際組織に協力した。また，米国 SACATM（動物実験代替法毒性試験顧問会議），ESAC（欧州動物実験代替法バリデーションセンター顧問会議）にオブザーバーとして参加し，審議に協力した。

会議関連の海外出張としては，石田第三室長が大韓民国韓国保健院 Ji-Won Jung 博士を訪ね，ヒトを含む ES 細胞の肝細胞への分化誘導の解析と肝毒性試験への応用に関する情報交換をおこなった。簾内主任研究官が ECVAM 第3回薬物動態・毒性代替法会議に参加し，欧州動物実験代替法センターを訪問し，*in vitro* 薬物動

態・毒性評価施設間バリデーション実施について協議した（イタリア，イスプラ市：9月14-18日）。小島室長が ESAC 第32回会議（イタリア，イスプラ市：4月12-16日）及び ESAC 第33回会議（イタリア，イスプラ市：10月11-15日）に招待され，日本の動物実験代替法の状況を発表した。ICH *in vitro* 生殖毒性試験ワークショップ（エストニア国，タリン市：6月4-7日）及び OECD 皮膚刺激性試験専門家会議（ドイツ，ベルリン市，10月18-23日）ではガイドラインの作成のための協議に参加した。動物実験代替プロジェクト FP7 AXLR 8 科学ワークショップ（ドイツ，ポツダム，5月29日-6月3日），ECVAM *in vitro* 皮膚感作性試験バリデーション実行委員会（イタリア，イスプラ市：6月22-26日），化学物質評価用発光細胞の標準化推進調査委員会の技術調査（イタリア，イスプラ市及びドイツ，ベルリン市：1月16-21日），国際コメットアッセイバリデーション研究第8回会議（英国，ロンドン，2月6-10日）では，試験法の調査・評価を行った。なお，赤木研究員も国際コメットアッセイバリデーション研究第8回会議（英国，ロンドン，2月6-10日）に参加した。

学会等のための海外出張としては，関野薬理部長がゴードンリサーチカンファレンス Cell Biology of the Neuron（アメリカ，ウォータービルバレー，6月26日-7月3日）に参加し，アクチン細胞骨格によるシナプス可塑性の制御メカニズムについて発表した。佐藤第一室長が北米神経科学学会（アメリカ，サンディエゴ，11月12-17日）に参加し，生後初期脳室下帯のマイクログリアによる神経細胞とオリゴデンドロサイト新生の調節について発表した。諫田第二室長はキーストーンシンポジウム A 8 部門（カナダ・バンクーバー，平成23年1月20-27日）に参加し，TGF $\beta$ による乳癌幹細胞の増殖について発表した。簾内主任研究官が第50回米国毒性科学学会（アメリカ，ワシントン D.C.，平成23年3月5-12日）に参加し，ヒト肝 Cytochrome P450 によるレボメトルファン代謝について発表した。小島室長は第12回国際トキシコロジー学会（スペイン，バルセロナ市，7月19-24日）に参加し，日本における動物実験代替法の行政的な認証の手順について発表した。ワクチン効能と安全性における動物実験の削減，苦痛軽減および代替に関する国際ワークショップ：科学的現状と今後の展望（米国，メリーランド州，ベセズダ市，9月13日-18日）にて座長を務めた。また，米国毒性学会50年会にて，JaCVAM の動向，培養表皮モデルを用いたコメットアッセイの条件検討等について発表した。

国内講演としては，関野部長が海馬と高次機能生理学会で海馬 CA2 領域の研究に関する教育講演を行い，慶応大学学生自主企画シンポジウムにおいて，記憶のメカ

ニズム研究に関する講演を行った。

学会シンポジウムでは、関野薬理部長が企画したシンポジウムが第88回日本生理学会大会と第84回日本薬理学会年会で採択されたが、震災の影響で両学会は誌上開催となった。

## 研究業績

### 1. 有効性・安全性評価のための科学技術開発に関する研究

- 1) ナノマテリアルの健康影響評価手法の総合開発および体内動態を含む基礎的有害性情報の集積に関する研究において、カーボンナノチューブに含まれている金属が超音波処理により溶出し、神経幹細胞増殖抑制作用およびミクログリア毒性をもつことを明らかとした。さらにカーボンナノチューブ微細粒の関与を検討するため生活衛生化学部と共同研究を行うことになった。
- 2) 創薬支援のためのヒト肝薬物輸送と代謝を評価する安定かつ再現性に優れた細胞レベルでの試験系の提示と毒性評価への応用研究において、創薬支援のためのヒト肝薬物輸送と代謝を評価する安定かつ再現性に優れた細胞レベルでの試験系の構築を目的として、アデノウイルスにより複数の薬物代謝酵素を発現する細胞系の構築とHepaRG細胞のトランスポーター評価系としての有用性に関する研究を行った。
- 3) HepaRG細胞を用いたヒト肝前駆細胞の分化・脱分化切替の分子ネットワークの解明において、フランス国立保健医学研究所 (INSERM) Anne Corlu 博士との共同研究として、分化の初期過程においては、ゲノムDNAメチル化阻害剤を用いた実験より、ゲノムDNAのメチル化が関与することを示唆するデータを得た。
- 4) 個体の成長期における神経系および肝臓系細胞の機能解析による化学物質の健康影響評価法に関する研究において、第一室は、生後初期前脳矢状面切片培養系の神経幹細胞、神経系前駆細胞を蛍光標識し、遊走および分化の観察系を確立した。この実験系を用いて抗がん剤であるシタラビンが確かに標識細胞の遊走、分化を阻害することを確認した。第二室は、ヒトEmbryonic Carcinoma細胞株 NteraT2/clone D1からヒト神経幹/前駆細胞のモデル細胞を構築した。第三室はヒト胎児肝細胞培養系とそれを用いた成人肝細胞への分化誘導系について、成人肝細胞を対照としたメタボローム解析を実施した。その結果、胎児肝細胞由来の細胞では、成人肝細胞に比べ胆汁酸の生合成が低いこと、グルクロン酸抱合能が低いことを示唆する結果を得た。また、成人肝細胞においてオルニチン回路

の活性化が認められた。本研究は崇城大学松下 琢教授との共同研究である。また、ヒト新生児期の肝細胞においても胎児期に特有なCYP3A7mRNA発現が高いことを示唆した。第四室は、実験系の確立として、神経堤細胞の機能解析法、発達成長期の脳神経系におけるニューロン・グリア新生評価実験法、神経幹/前駆細胞の培養法、及び胎児肝細胞の培養を確立した。

### 2. 医薬品等の中枢機能に及ぼす影響に関する薬理学的研究

- 1) 食品中化学物質への胎生～新生期曝露が情緒社会性に及ぼす影響評価手法の開発においてバルプロ酸、エタノール、ニコチンに胎生期、新生期に曝露された動物の扁桃体のマイクロアレイ解析を行い、共通の遺伝子、共通のパスウェイ、不安感に関連する遺伝子などからまず注目すべき30遺伝子を選定した。qRT-PCRにより定量性を確認し、代替実験が可能であることも明らかにした。
- 2) グリア型グルタミン酸トランスポーター新規調節機構の解明として、SNARE蛋白質であるsyntaxinをグリア型グルタミン酸トランスポーターEAAT2と共発現させたところ、EAAT2電流が抑制されることを明らかにした。PI4キナーゼ阻害によってEAAT2電流が阻害されることも明らかにした。SNARE蛋白質やPI4キナーゼがグルタミン酸トランスポーター機能を調節している可能性を見いだした。
- 3) アクチンによるシナプス機能制御とその高次機能における役割の研究において、ドレブリンAノックアウトマウスの海馬スライスで記録される長期増強には年齢依存的な変化があることが示唆された。
- 4) 麻薬関連物質の薬効とその作用メカニズムを簡便に評価するin vitro実験系の開発において、マウス脳より作成する扁桃体を含むスライス標本内の興奮と抑制回路機能を膜電位感受性色素により画像により解析する方法の導入を試みるために実験系を立ち上げた。

### 3. ヒトiPS細胞由来分化細胞を用いた薬理学的研究

- 1) ヒトiPS細胞を用いた新規in vitro毒性評価系の構築ならびにヒトiPS細胞由来モデル細胞(肝・神経・心筋)の作成およびモデル細胞を用いた薬剤毒性評価技術の構築において、先端医療開発特区に関する研究課題として、ヒトiPS細胞を用いた新規in vitro毒性評価系の構築に関する研究と情報収集にあたった。具体的には、第一室は、マウスES細胞の分化誘導プロトコルを慶應大学より導入した。幹細胞から分化誘導を経て毒性評価系を確立するプロトコル構築を行うため、免疫染色、カルシウムイメージング実験系の最適化を行った。大阪医療センターより供与されたヒトiPS由来neurosphereを分化誘導し、神経回路形成に

成功した。慶應大学からも iPS 由来 neurosphere 供与を受けるため MTA を取り交わした。第二室はヒト iPS 細胞を用いて心筋への分化誘導を検討し、拍動 EB の作成および拍動心筋細胞の単離法を確立した。第三室は、iPS 細胞由来肝細胞の薬物動態関連因子の活性評価に関する検討項目を設定し、予試験として、先端医療開発特区参加研究機関から活性測定機関への輸送に関する検討を行い、輸送法に特段の問題がないことを確認した。in vitro 毒性評価系の構築とガイドライン化に関して、先端医療開発特区参加者と日本製薬工業協会との間で検討会を行った。本研究を中心とした成果を日本動物実験代替法学会、第23回大会におけるシンポジウムにて発表した。

- 2) 難治性てんかん患者由来 iPS 細胞を用いた新規創薬基盤の構築において、大阪医療センターより供与された健康人 iPS 由来 neurosphere (難治性てんかん患者 iPS 由来 neurosphere のコントロール細胞) を分化誘導し、回路形成およびシナプスマーカー蛋白質の発現を確認した。さらに、てんかん患者脳由来細胞の供与も受け、正常神経系細胞とは異なる特質を持つことを明らかとした。
- 3) ヒト由来幹細胞の安全性薬理試験への応用可能性のための調査研究が昨年10月に厚生労働科学研究費補助金で指定研究として採用され開始した。ヒト iPS 由来神経細胞の安全性評価系への応用、創薬応用の現状について情報収集を行った。第一室において、ヒト iPS 由来神経細胞の薬理実験への応用性・安定性を確認するため、複数種のヒト iPS 由来 neurosphere を使った比較実験を開始した。第二室において、ヒト iPS から心筋の分化誘導に成功した。iPS 株により分化しやすさが異なることが実証された。佐藤第一室長、諫田第二室長が、第2回日本安全性薬理研究会学術年会に参加し企業若手研究者と iPS 細胞の安全性薬理研究への応用性について意見交換を行った。

#### 4. 安全性試験法の公定化に関する研究

- 1) 国際的整合性を目指す医薬品等の品質、有効性及び安全性に関する研究において、in vitro 生殖毒性試験について詳細に検討し、ICH での議論に反映させた。
- 2) 動物実験代替法を用いた安全性評価体制の確立と国際協調に関する研究として、化粧品や医薬部外品、医薬品等の安全性評価のために用いられ、代替法の開発が十分でない皮膚透過性、眼刺激性、及び光毒性試験の代替法の開発を継続した。皮膚刺激性試験代替法及び眼刺激性試験代替法のバリデーションを実施した。
- 3) 国際協調により公的な試験法を確立するための手順に関する研究として、内分泌かく乱化学物質試験法及

び遺伝毒性試験法の一つであるコメットアッセイについて欧米の動物実験代替法の専門機関と協力して国際共同研究を企画し、バリデーションを継続して実施した。

- 4) 国際的動向を見据えた先端的安全性試験の開発と評価に関する研究として、試験法を検証・評価する組織である JaCVAM の事務局として、皮膚感作性試験 (LLNA: BrdU 法) の導入を行政に提案した。酵母光生育阻害試験と赤血球光溶血性試験の組み合わせによる光毒性試験代替法及び In vitro 発熱性物質試験の評価を実施した。また、ヒト培養皮膚モデルを用いた遺伝毒性試験の開発研究を行った。
  - 5) 国内におけるヒト正常細胞分譲システム網の確立として、ヒト皮膚の人種差における調査研究を行った。
  - 6) 医薬品・化学物質等の肝細胞を用いた国際的薬物代謝・毒性評価標準試験法の確立に関する研究において、ヒト肝細胞を用いた国際的薬物代謝酵素誘導・毒性評価標準試験法案による施設内バリデーションおよび施設間プレバリデーション結果について検討した。
- #### 5. 医薬品等のトキシコキネティクスに関する研究
- 麻薬関連物質のヒト肝における代謝に関する研究において、Levomethorphan は、ヒト肝 CYP2D6 により O-脱メチル化されることを示した。

#### 6. 医薬品等の細胞機能に及ぼす影響に関する薬理学的研究

- 1) 化学物質による胚のタンパク発現変化の発生異常に及ぼす影響に関する研究において、既知の発生毒性物質 6 種類について、ラット全胚培養による発生毒性実験を実施し、胚タンパク解析用のサンプルを作成した。
- 2) ラット着床胚におけるタンパク質ジスルフィドイソメラーゼのチャージバリエーションに関する研究において、化学物質による小胞体ストレスに関与するタンパク質ジスルフィドイソメラーゼのリン酸化について調べたところ、チャージバリエーションの発現にリン酸化が関与することが示唆された。

- 3) ユビキチンリガーゼ CHIP プロモーターのエピゲノム情報操作による革新的乳がん治療法の開発において、乳癌幹細胞の増殖を誘導するホルモンの探索を行った結果、エストロゲンおよび TGF $\beta$  を見出した。

#### 7. その他 共同研究など

関野薬理部長は、興奮性シナプスの形成や維持に重要なアクチン結合蛋白の研究について、群馬大学大学院医学系研究科白尾智明教授と、アデノシン A1 受容体欠損マウスの脳内 FRS mRNA 発現変化に関する研究について東京大学医科学研究所システム生命科学技術開発共同研究ユニット後藤典子准教授と、マウス扁桃体スライ

ス標本からのアミノ酸遊離の可視化法を用いた研究について浜松医科大学生理学第一講座福田敦夫教授および豊橋技術科学大学環境・生命工学系吉田祥子講師から技術指導を受け共同研究を行い、海馬スライスからのATP遊離の可視化について生理学研究所池中一裕教授と生理学研究所において共同研究を行っている。佐藤第一室長は、難治性てんかん患者由来iPS細胞を用いた研究について大阪医療センター金村米博室長と、ヒトiPS細胞からの神経細胞への分化誘導について慶応大学医学部岡野栄之教授、岡田洋平准教授と、食品中化学物質の生後脳発達に及ぼす影響について、麻布大学生命環境科学部守口徹教授、北海道大学薬学部南雅文教授、東京慈恵会医科大学医学部加藤総夫教授、山梨大学大学院医学工学総合研究部小泉修一教授と共同研究を行っている。諫田第二室長は乳癌幹細胞におけるユビキチンリガーゼのエピゲノムに関する研究について筑波大学生命環境科学研究科柳澤純教授、東北大学医学部林慎一教授と、iPS細胞を用いた心毒性評価系について東京医科歯科大学難治疾患研究所黒川洵子准教授と、共同研究を行っている。小島室長は、藤田保健衛生大学医学部皮膚科客員講師として、松永佳世子教授と化粧品・医薬部外品の使用試験に関する共同研究を行っている。

## 病 理 部

部 長 小 川 久美子  
前部長事務取扱 西 川 秋 佳

### 概 要

病理部では、病理学的解析を基盤とした安全性評価に係る研究を行っているが、特に化学物質の毒性・発がん性に関する病理学的研究、安全性評価のための新手法・生体指標に関する研究、動物発がんモデルに関する研究、発がんメカニズムに関する研究、環境化学物質のリスクアセスメントに関する研究等を中心に業務を遂行した。

人事面として、西川秋佳部長が、平成22年4月1日付けにて安全性生物試験研究センター長に就任し、病理部長事務取扱を併任することとなったが、小川久美子第三室長が平成22年12月1日付けで、病理部長に就任し、部長事務取扱の併任が解かれることとなった。一方、平成22年4月1日付けで、井上薫研究員が主任研究員に昇格した。また、入江かをる博士は平成22年3月31日付けで育児休業代用職員の任期満了となり、5月1日より引き続き協力研究員として研究協力を仰ぐこととなった。さらに、平成23年2月1日付けで曹永晩主任研究員が

第三室室長に昇格した。これに加えて、平成23年3月1日付けで高須伸二博士が研究員として採用され、平成23年3月25日付けで任期付研究員であった高橋美和博士が研究員として採用された。

短期海外出張として、梅村隆志第一室長はフランス・パリにてOECDが主催したGLP作業部会に出席して、昨年度実施したOECD加盟国による相互査察の最終評価ならびに今後の査察予定について討議した(平成22年5月18日～20日)。引き続き、ベルギー・ブリュッセルにて、ニュージーランドと日本よりなる評価チームの一員として、ベルギー査察当局によるGLP査察の現地調査を行った(5月21日～28日)。また、スイス・ジュネーブで開催された第73回FAO/WHO合同食品添加物専門家委員会(JECFA)に出席し、食品添加物(香料)ならびに汚染物質の安全性評価を行った(6月8日～17日)。吉田緑第二室長はイタリア・ローマにて農薬および作物残留に関するFAO/WHO合同会議(JMPR)2010の世界保健機関側の毒性専門家として農薬リスク評価に参加し、新規および定期的な再評価を含む計10剤の農薬の毒性についてリスク評価を行い、一日摂取許容量(ADI)および急性参照用量(Acute reference dose, ARfD)の設定を行った(平成22年9月21日～30日)。小川久美子第三室長は米国・ワシントンDCにて動物用医薬品承認基準国際化対応委員会(VICH)の安全性専門委員会に参加し、動物用医薬品の急性参照用量算出に関するガイドラインについて協議し、方針と原案の策定をおこなった(平成22年10月25～26日)。また、西川秋佳前部長および石井雄二研究員はスペイン・バルセロナで開催された第12回国際毒性学会(平成22年7月19～23日)に参加し、さらに西川秋佳前部長はハンガリー・ブダペストで開催された第8回欧州毒性病理学会(平成22年9月28日～10月1日)に参加し、井上薫主任研究員および高橋美和研究員は米国・ワシントンDCで開催された第50回米国毒性学会(平成23年3月6～10日)に参加し、それぞれ発表および討議を行った。

### 研究業績

#### 1. 化学物質の臓器障害性に関する研究

##### 1) 食品中の遺伝毒性を有する有害物質のリスク管理対策に関する研究

アクリルアミド(AA)をC57BL/6系 *gpt delta* マウスに投与し、肝臓と腎臓の *in vivo* 変異原性を検索した結果、肝臓では *gpt* 遺伝子突然変異頻度の上昇傾向と *red/gam* 遺伝子突然変異頻度の有意な上昇が認められたが、昨年度の結果を考慮した結果、これらの変化に酸化損傷の関与は認められなかった(厚生労働科学研究費補助金)。AAの変異原性における

幼若期暴露の影響を検討するため、幼若期（3週齢）と成熟期（11週齢）のB6C3F1系 *gpt delta* マウスにAAを4週間投与し、肺、肝臓及び腎臓を採取した。投与期間中、アクリルアミドの神経毒性は幼若期投与において強く認められた（厚生労働科学研究費補助金）。

## 2. 食品添加物、農薬、医薬品の安全性に関する研究

### 1) 食品添加物の毒性並びに発がん性の研究

セミカルバジドのマウス・経口・発がん性試験の投与を終了し、四肢をはじめとする骨の変形が観察され、全身諸臓器について標本を作製している（食品等試験検査費）。また、セミカルバジドのラット・経口慢性毒性・発がん性併合試験については、慢性毒性試験の病理組織学的検索を開始し、発がん性試験の動物実験を終了した（食品等試験検査費）。ブドウ果皮抽出物、ミルラ、鉄クロロフィリンナトリウム、グレープフルーツ種子抽出物およびコンドロイチン硫酸ナトリウムのラット・経口・90日間亜慢性毒性試験のための用量設定試験を終了し、ブドウ果皮抽出物について本試験を開始した（食品等試験検査費）。オルトフェニルフェノールのラット膀胱発がん機序解明のための動物実験を終了し、遺伝子発現解析のためのサンプル採取を行った（一般試験研究費）。

### 2) 既存添加物の慢性毒性および発がん性に関する研究

オゾケライトのラット・経口・慢性毒性試験の病理組織検索を終了し、種々の臓器に投与物質に起因した肉芽腫が認められたほか、著変は認められなかった。発がん性試験の動物実験は終了し、病理組織学的検索を開始した（厚生労働科学研究費補助金）。カラムスイッチング法を用いたLC-MS/MSによるアカネ色素成分ルシジンおよびルビアエーデンの特異的DNA付加体であるLuc-N<sup>2</sup>-dG, Luc-N<sup>6</sup>-dAの分析法を構築し、*in vivo* 試料での測定を行った（厚生労働科学研究費補助金）。トコトリエノールの長期投与により誘発した肝結節性病変をマイクロダイセクションにより採取し、マイクロアレイ解析による網羅的遺伝子解析を開始した（厚生労働科学研究費補助金）。また、トコトリエノールを *gpt delta* ラットに13週間投与して、肝臓のマイクロアレイ解析を実施した結果、DNA傷害関連遺伝子の変化は認められなかった（厚生労働科学研究費補助金）。

### 3) 食品中の複数の化学物質による健康影響に関する調査研究

MeIQxと動物用医薬品のフルメキンを併用投与した *gpt delta* マウス肝臓のマイクロアレイによる網羅的遺伝子解析を行い、*in vivo* 変異原性の増強に関与する遺伝子の検索を開始した（厚生労働科学研究費補助

金）。*gpt delta* マウスに臭素酸カリウムとニトリロ三酢酸を13週間併用投与する実験を終了し、標的臓器の腎臓の病理組織標本を作製した（厚生労働科学研究費補助金）。*gpt delta* ラットにMeIQxとβ-ナフトフラボン及びチアベンダゾールを併用投与し、肝臓の *in vivo* 変異原性を検索した結果、MeIQxの変異原性が抑制されることが明らかとなり、MeIQxの *in vivo* 変異原性には第2相代謝酵素による解毒経路の活性化が関与している可能性が示唆された（厚生労働科学研究費補助金）。さらに、*gpt delta* マウスにルシジン配糖体とペンタクロロフェノールを併用投与した結果、肝臓のスルフトランスフェラーゼ活性が抑制され、ルシジン特異的DNA付加の生成が腎臓及び肝臓において抑制されることを明らかにした。（厚生労働科学研究費補助金）。ラットにエストラゴールを4及び16週間経口投与した結果、4週目において肝臓の細胞増殖活性、DNA付加体形成及び *in vivo* 変異原性の用量依存的な増加が認められ、16週目には肝前がん病変が認められた（厚生労働科学研究費補助金）。*gpt delta* マウスにエストラゴールを13週間投与した結果、DNA付加体形成及び *in vivo* 変異原性が用量依的に増加した（厚生労働科学研究費補助金）。アリストロキア酸の *in vivo* 変異原性を検索するため、6週齢のB6C3F1 *gpt delta* マウスに4週間投与する動物実験を終了した（厚生労働科学研究費補助金）。

### 4) 食品添加物等における遺伝毒性・発がん性の短期包括的試験法の開発に関する研究

*gpt delta* マウスに香料である1-メチルナフタレンを13週間投与した結果、一般毒性及び *in vivo* 変異原性において投与による変化は認められず、1-メチルナフタレンに遺伝毒性がないことを明らかにした（厚生労働科学研究費補助金）。*gpt delta* ラットにサフロールを13週間投与した結果、肝臓の8-OHdGレベルは有意に増加し、発がん用量で *in vivo* 遺伝子突然変異頻度の有意な増加が認められたことから、サフロールの肝発がん機序に遺伝毒性メカニズムならびに酸化ストレスが関与することが示唆された（厚生労働科学研究費補助金）。*gpt delta* ラットに香料であるサフロールとペンタクロロフェノール又はN-アセチルシステインを併用投与する動物実験を開始した（厚生労働科学研究費補助金）。*gpt delta* ラットにメチルオイゲノールを13週間投与する動物実験を終了した（厚生労働科学研究費補助金）。*gpt delta* ラットにフランを13週間投与した結果、一般毒性評価ではフランの標的臓器である肝臓に障害が認められ、肝臓の前がん病変（変異肝細胞巣、胆管線維症）も認められたが、*in vivo* 変異原性は陰性だった。胆管線維症が肝臓葉特異的に認めら

れたことから、肝臓の葉ごとにおける *in vivo* 変異原性評価を実施したが、いずれも陰性だった(厚生労働科学研究費補助金)。

#### 5) 食品中のグリシドール脂肪酸エステルおよび3-MCPD 脂肪酸エステルの安全性評価に関する研究

水溶液中での安定性が示されたグリシドール、グリシドールリノール酸エステル、グリシドールオレイン酸エステル、3-MCPD、3-MCPD パルミチン酸ジエステル、3-MCPD オレイン酸ジエステル、(sn1) 3-MCPD パルミチン酸モノエステルについて、*gpt delta* ラットを用いた *in vivo* 遺伝毒性試験を開始した(食品健康影響評価技術研究委託費)。

#### 6) アブラナ科野菜の発がん抑制作用を得るための摂取目標量と個体差のヒト尿を用いた測定に関する研究

アブラナ科野菜に含まれる4-methylthiobutyl isothiocyanate (MTBITC) をシリアンゴールデンハムスターに混餌投与し、尿中代謝物を検討したところ、MTBITC は検出限界以下であり、ITC 以外の代謝物への変換が示唆された(科学研究費補助金(日本学術振興会))。

### 3. 化学物質の安全性評価に関する研究

#### 1) 動物用医薬品等に関する畜水産物の安全性確保に係る研究

ピペロニルブトキサイドを *mzf2* 欠損マウスに1年間投与する実験を終了し、病理組織学的検索を開始した(厚生労働科学研究費補助金)。*gpt delta* ラットを用いて合成抗菌剤ニトロフラントインおよびその代謝物であるニトロフルフラールとアミノヒダントインの *in vivo* 変異原性試験を実施した結果、ニトロフラントインで遺伝子突然変異頻度の上昇が認められ、代謝物であるアミノヒダントインの関与が示唆された(厚生労働科学研究費補助金)。

#### 2) 胎児期・新生児期化学物質曝露による新たな毒性評価手法の確立とその高度化に関する研究

新生児期曝露による、脳腫瘍形成に対する影響を、経胎盤的にエチルニトロソ尿素(ENU)を投与し、脳腫瘍を誘発したラット新生児に経母乳あるいは、混餌投与によるマグネシウムの影響を観察することで検討した(厚生労働科学研究費補助金)。

#### 3) 有害作用標的性に基づいた発達期の化学物質曝露影響評価手法の確立に関する研究

新生児期からの曝露による、脳腫瘍形成に対する影響を検討する目的で、妊娠17日目の母ラットにENUの経胎盤投与を行い、出産と同時に発達期神経毒であるマンガンを、母動物および離乳後は仔動物に合計34週間混餌投与した。仔動物の一般状態、体重、摂餌量及び生存率にマンガン投与による有意な変化はみられ

ず、マンガンによる中枢神経腫瘍の発生率、発生数及び体積に対する影響は認められなかった(厚生労働科学研究費補助金)。同様のモデル系で、ニコチンの曝露試験を実施中である(厚生労働科学研究費補助金)。ヒト類似の脳腫瘍モデルマウスである *Ptch* マウスにおいて、生後4および21日のENU腹腔内投与では脳腫瘍発生率の有意な上昇は認められなかった(厚生労働科学研究費補助金)。

#### 4) 化学物質の臨界期曝露が神経内分泌・生殖機能へ及ぼす遅発性影響の機序解明と指標確立に関する研究

ラットにおいて、 $17\alpha$ -ethynylestradiol 0~200 $\mu$ g/kgの新生児期単回曝露は、性成熟に大きく影響しないが、遅発性影響として用量依存性に性周期の変調を来すことが明らかとなった(厚生労働科学研究費補助金)。

#### 5) 化学物質による肝肥大誘導機序の解析を基盤とした肝発がんリスク評価系の構築

種々の肝肥大誘導物質をラットに投与し、肝発がん機序を多角的に解析を実施した結果、肝肥大物質あるいは肝発がん物質に共通する因子の存在が明らかになった(食品健康影響評価技術研究委託費)。CAR ノックアウトマウスを用いて、CAR 遺伝子の肝発がん過程への関与について解析し、ピペロニルブトキサイトとフェノバルビタールの肝発がん過程にCARが関与すること、CARが関与する肝肥大は必ずしも肝発がんに必要な変化ではないことが明らかになった(一般試験研究費)。

#### 6) 動物モデルを用いた卵巣毒性評価法の確立と毒性発現機序に関する研究

ラットを用いて卵巣および黄体を標的とする化学物質の卵巣毒性発現メカニズムを解析した。また、卵巣毒性を介した二次的な子宮発がんの動物実験を終了した(一般試験研究費)。

#### 7) ナノマテリアルのヒト健康影響の評価手法の開発のための有害性評価および体内動態評価に関する基盤研究

ナノマテリアル(フラーレンおよびカーボンナノチューブ)の吸入曝露による中枢への影響を検出することはできなかった。ラットの経気道曝露された酸化チタンは肺のマクロファージに長期留まると考えられた(厚生労働科学研究費補助金)。

#### 8) 発達期における腎毒性評価系の確立に関する研究

幼若ICRおよびBALB/Cマウスの腎毒性物質に対する感受性を検討するため、アドリアマイシンを投与し、腎臓の病理組織学的検索を開始した(一般試験研究費)。

#### 9) 化学物質リスク評価における(定量的)構造活性相

#### 関 ((Q) SAR) に関する研究

化学物質の短期毒性試験約380より、投与に関連して発現した約1600の病理組織学的所見を12の系統、339の用語に分類し、シソーラスを構築した(厚生労働科学研究費補助金)。

#### 4. 真菌由来の生理活性物質に関する研究

##### 1) かび毒・きのこ毒の発生要因を考慮に入れたリスク評価方法の開発

*gpt delta* ラットにオクラトキシン A を4週間投与した腎臓の皮質および髄質外帯部における *in vivo* 変異原性評価を実施した結果、発がん標的部位を含む髄質外帯部で *red/gam* 遺伝子変異頻度が上昇した(食品健康影響評価技術研究委託費)。オクラトキシン A 誘発 *in vivo* 変異原性に対する癌抑制遺伝子 *p53* の役割を調べるため、野生型である *gpt delta* (WT) マウスおよび *p53* 欠損 *gpt delta* (*p53KO*) マウスにオクラトキシン A を4週間投与し、腎臓における *in vivo* 変異原性を検索した結果、WT マウスでは、変異原性は認められなかったが、*p53KO* マウスでは *red/gam* 遺伝子変異頻度が上昇した(食品健康影響評価技術研究委託費)。

##### 2) 食品中のカビ毒(オクラトキシン A)に係る試験検査

オクラトキシン A を4週間投与した腎臓の皮質および髄質外帯部における酸化的 DNA 損傷と脂質過酸化レベルを検索した結果、いずれも変化は認められなかった。さらに、*gpt* 変異スペクトラム解析の結果、両部位共に GC:TA transversion 変異を含めた、特徴的な変異パターンは認められなかった(食品等試験検査費)。

#### 5. 有害性評価の生体指標に関する研究

##### 1) 酸化ストレスの発がん過程に及ぼす影響に関する研究

*Nrf2* 欠損マウスを用いた臭素酸カリウムの発がん性を、病理組織学的検索により評価を継続した(一般試験研究費)。

#### 6. 動物発がんモデルの確立に関する研究

##### 1) 代替毒性試験法の評価と開発に関する研究

*gpt delta* ラットを用いた包括試験法の有用性を検討するため、タモキシフェン及びペンタクロロフェノールを13週間単独及び併用投与し、コメットアッセイを行った結果、投与による変化は認められなかった(政策創薬総合研究事業)。*gpt delta* ラットの自然発生腫瘍スペクトラムを背景系統の F344系ラットと比較するための動物実験を継続し、96週目を経過した(政策創薬総合研究事業)。また、*Ptch* マウスを継代し、脳腫瘍および背景病変検索のための臓器サンプルを4世

代分収集した(一般試験研究費)。

##### 2) 個体レベルでの発がん予知と予防に関する基盤的研究

*Helicobacter pylori* (ピロリ菌) 感染スナネズミに香辛料主成分であるクルクミン・カプサイシン・ピペリンを混餌投与し、慢性胃炎に対する抑制効果を検索した。カプサイシン・ピペリン投与により、慢性胃炎の程度は有意に抑制された。クルクミンは *in vitro* で最も強いピロリ菌増殖抑制を示したが、*in vivo* での胃炎抑制は明らかではなかった(がん研究助成金)。

##### 3) げっ歯類モデルを用いたヘリコバクター・ピロリ除菌後胃癌の化学予防法の検討

スナネズミ胃癌モデルを用いて、ピロリ菌除菌後胃癌に対するアスピリンの化学予防効果を検討するための動物実験を開始した(科学研究費補助金(文部科学省))。

#### 7. 発がん過程に影響を及ぼす諸因子の研究

##### 1) 腎発がん物質の発がん機序と腫瘍発生部位特異性に関する研究

ラットに腎発がん物質クロロタロニルを投与し、投与により発生した病変とその発生部位について、病理組織学的検索を開始した(一般試験研究費)。

#### 8. 化学物質データベースシステムの作成に関する研究

##### 1) 既存化学物質安全性点検支援システムを利用した評価手法の研究

システムを構築し、データ入力を行うとともに、安全性評価業務と評価手法の研究を継続した(一般試験研究費)。

変異遺伝部

部長 能 美 健 彦

#### 概 要

前年度に引き続き、研究面では、遺伝毒性の評価と解釈に関する研究、遺伝毒性試験法の改良と新しい手法の開発に関する研究、突然変異誘発機構に関する基盤的研究、化学物質による遺伝毒性の構造活性相関に関する研究を行った。

一般に、遺伝毒性物質の作用には閾値が存在しないとされ、遺伝毒性物質はどのように微量であってもヒトにリスクを負わせるものと考えられている。だがヒトには、さまざまな生体防御機能(解毒代謝、DNA 修復、誤りのないトランススクリプション DNA 合成、アポトーシス等)が具備されており、微量の遺伝毒性物質の突然変異誘発作用は、自然突然変異のレベルにまで抑制される

可能性が考えられる。低用量遺伝毒性物質のリスク評価を当部の重要な研究課題と考え、平成21年度より厚生労働科学研究費の補助を得て「食品添加物等における遺伝毒性発がん物質の評価法に関する研究」班を発足させ、多様な面（解毒代謝、DNA修復、トランスリージョンDNA合成等）から低用量遺伝毒性物質のリスク評価について研究を進めている。また、平成22年度からは「DNAポリメラーゼ $\gamma$ （ゼータ）の遺伝的改変による遺伝毒性閾値形成機構に関する研究」（科学研究費補助金（文部科学省））を開始し、トランスリージョンDNA合成が閾値形成にはたす役割について検討を進めている。トランスリージョンDNA合成とは、特殊なDNAポリメラーゼが損傷部位を乗り越えてDNA合成を行い、DNA損傷を突然変異に固定する生化学反応であり、トランスリージョンDNA合成に係わるDNAポリメラーゼの研究は、低用量域の遺伝毒性評価を行う基盤として重要と考えている。

遺伝毒性試験は、従来、*in vitro*（培養細胞、微生物）とマウス小核試験のみで行われることが多かったが、近年、動物個体（*in vivo*）を用いて遺伝毒性を評価する手法が開発されている。当部が中心に開発を進めた *gpt delta* トランスジェニックマウスおよびラット遺伝毒性試験は、複数の臓器で突然変異を検出することができるため、発がんの標的臓器で遺伝毒性が発がんに関与しているかを検討することができる。平成22年度は、F344 *gpt delta* トランスジェニックラットを用いて、植物由来の天然物（シリマリン）の大腸発がんおよび大腸における遺伝毒性に対する抑制作用について検討した（がん研究助成金）。*gpt delta* トランスジェニックマウスおよびラットを含むトランスジェニック動物を使った遺伝子突然変異試験については、平成23年3月にパリのOECD本部で開催された会議において、試験ガイドライン案が作成された。

トキシコロジーの分野では動物愛護が潮流であり、動物実験を *in vitro* 試験で代替し、さらにはコンピューターを用いて化学構造から（遺伝）毒性を予測することが求められている。平成22年度に開始した「統合型毒性試験系による安全性評価手法構築に関する研究」（HS財団受託研究費）は、トランスジェニック動物を用いた遺伝毒性試験に異なるエンドポイントの試験を組み込んで、限られた数の動物からより多くの情報を得ることを目指す一方で、動物を使わない *in vitro* 代替試験法の開発を検討している。また構造活性相関に基づく *in vitro* 遺伝毒性試験の結果の予測に関し、その予測性の向上を図った（厚生労働科学研究費補助金）。

生活環境化学物質の遺伝毒性については、アクリルアミドのラットにおける遺伝毒性を検討し、アクリルアミ

ドの遺伝毒性は精巢で強く現れ、その程度は成熟動物より幼若動物で顕著であることを明らかにした（厚生労働科学研究費補助金）。またカーボンナノチューブの *in vitro* および *in vivo*（小核試験、*Pig-a* 遺伝子突然変異試験）における遺伝毒性を検討した（厚生労働科学研究費補助金）。

ICH（International Conference on Harmonization of Technical Requirement for Registration of Pharmaceuticals for Human Use）については、医薬品中に含まれる遺伝毒性不純物に関するガイドライン（M7）の策定が決定され、平成22年11月から専門家会議が組織された（厚生労働科学研究費補助金）。

第一室では主として（1）遺伝毒性メカニズムの研究、（2）遺伝毒性評価系の開発、（3）環境化学物質の遺伝毒性評価に関する研究、（4）遺伝毒性不純物の評価と管理に関する研究、（5）構造活性相関（QSAR）による化学物質の遺伝毒性の予測に関する研究を行った。（1）遺伝子ターゲティングによりゲノムの特定部位に、DNAの酸化損傷である8-オキソグアニンを導入し、その修復メカニズムを解析する研究を行った。8-オキソグアニンは、ゲノム内でもG:C→T:Aトランスバージョン突然変異を主に引き起こすことが明らかになった。慢性炎症の発がんに関与するとされるDNA付加体について、その突然変異誘発能およびメカニズムを *in vitro* 実験系を用いて検討した。炎症部位で生じる8-プロモグアニン、8-プロモアデニン、5-プロモシトシンの3つの付加体のうち、8-プロモグアニンのみが突然変異誘発能を有することが分かった。この研究成果は英国とドイツの環境変異原学会が主催する暴露バイオマーカーおよび酸化的DNA損傷に関する国際ワークショップで発表した。（2）*in vitro* コメット試験の標準化を目指して、ヒトリンパ球細胞を用いたコメット試験法の国際バリデーション共同研究を行った。共同研究の成果を基に、最終的にはOECDでのガイドライン化を目指す。内在性遺伝子である *Pig-a* 遺伝子を標的遺伝子とした *in vivo* 突然変異検出系を帝人ファーマとの共同研究により新規に導入、確立した。本試験系では、試験検体を処理した実験動物から簡便に得られる血液サンプル（赤血球）のGPI結合型膜タンパク質発現の有無を指標に *Pig-a* 遺伝子突然変異頻度を簡便に定量することが出来る。*gpt delta* トランスジェニックマウスから単離した初代培養肝細胞を用いた新たな *in vitro* 遺伝毒性試験を確立した。EGFおよびHGF添加により一過性の肝細胞分裂を誘導する条件下で *in vitro* 培養系における化学物質の遺伝毒性を *gpt* アッセイ法により評価した。その結果、ベンツピレン処理群では有意な突然変異頻度の上昇が見出されることが分かった。本試験系は代謝活性化を

必要とする化学物質の評価に有効である。(3) *in vitro*, もしくは *in vivo* 遺伝毒性試験系を用い、実際の環境化学物質の遺伝毒性評価を行った。生活環境中に存在し、健康リスクに懸念があるアクリルアミド(食品中発生物質)と、カーボンナノチューブ(微粒子ナノ物質)について試験を行った。アクリルアミドを成熟、および幼若ラットに飲水投与すると、幼若ラットにおいて、有意に *Pig-a* 遺伝子突然変異、末梢血小核頻度の増加が観察された。特に幼若ラットでは精巣に対して高いDNAアダクトの蓄積が観察された。フラーレン、およびカーボンナノチューブの一部は *in vitro* において染色体の倍数性を誘発した。また、フラーレンをマウス腹腔内に投与した試験では *Pig-a* 遺伝子突然変異の誘発は観察されなかった。*Pig-a* 遺伝子突然変異の標的臓器は骨髄造血系細胞であることから、フラーレンの遺伝毒性を適正に解析するには、他の遺伝毒性試験との組合せが必要であると考えられた。これら結果は第40回ヨーロッパ環境変異原学会、第41回米国環境変異原学会で発表された。(4) 医薬品に含まれる遺伝毒性不純物の評価と管理に関する研究を今年度より開始した。欧米のガイドラインを参考に、国際ガイドラインの策定を目指す。(5) QSARによる化学物質の遺伝毒性の予測の研究に関しては、DEREK, Mcase, Aworks, TIMESの4種類のプラットフォームを用いて一般化学物質、食品香料等を予測した。*in vivo* 小核試験の予測に関してはDEREKの開発元である英国ラーサ社、およびブルガリアのブルガス大学との共同研究により、プロトタイプの子測モデルの構築に成功した。

第二室では(1) 遺伝毒性試験用サルモネラ株の改変による各種変異原検出システムの検討、(2) 変異誘発に関わるDNAポリメラーゼの作用機構、(3) トランスジェニック動物を用いる遺伝毒性試験のバリデーション、(4) 統合型遺伝毒性試験法の開発、(5) 変異原物質が生殖細胞に誘発する変異の研究を行った。

(1) に関しては、エームス試験に用いるサルモネラ株において、トランスリジョンDNA合成に係わるDNAポリメラーゼを欠損させた株での、各種変異原の検出感度を詳細に調べた。(2) については、損傷乗り越えDNAポリメラーゼを不活化させたノックインヒト細胞株およびミスマッチ末端からの伸長活性を増大させたヒト細胞株を作出し、その感受性を検討した(科学研究費補助金(文部科学省))。(3) については、F344系 *gpt delta* トランスジェニックラットを用いて、植物由来の天然物であるシリマリンの大腸発がんおよび大腸における遺伝毒性に対する抑制作用について検討した(がん研究助成金)。(4) については、代替試験法として、エームス試験菌株でヒトDNAポリメラーゼ $\eta$ を発

現させた株を作製し、UV感受性を調べた。*gpt delta* マウスの加齢による突然変異蓄積について検討した。肝臓では点突然変異頻度が加齢に伴い有意に増加したが、精巣では増加が認められなかった。欠失変異は肝臓および精巣ともに加齢に伴う増加がみられなかった(HS財団受託研究費)。(5) については、損傷乗り越えDNAポリメラーゼ $\kappa$ (Polk)を不活化させたノックインマウスを作出し、Polkノックイン *gpt delta* ダブルトランスジェニックマウスの自然突然変異の特徴を分析し、高感度検出系としての有用性を検討した(地球環境保全等試験研究費)。

人事面では、水澤 博博士(元医薬基盤研究所)、青木康展博士(国立環境研究所)を客員研究員として、清水雅富博士(東京医療保健大学)を協力研究員として引き続き受け入れた。

短期海外出張としては、本間室長は5月23日から5月30日までカナダに出張し、モントリオールで開催された環境および健康科学の関する第14回定量的構造活性相関国際ワークショップに出席し、ポスター発表を行った。能美部長は6月21日から6月26日まで中国を訪問し、上海の中国科学院上海薬物研究所でセミナーを行い、杭州で開催された第2回西湖医薬国際会議で座長と招待講演を行った。本間室長は7月4日から7月9日までフランスとイギリスに出張し、パリのOECDを訪問し遺伝毒性試験の改正に関する打ち合わせを行い、その後リーズのラーサ社を訪問し、構造活性相関に関する研究打ち合わせを行った。本間室長は7月18日から7月25日までスペインに出張し、バルセロナで開催された第12回国際毒科学会へ出席した。本間室長は9月13日から9月19日までフィンランドとノルウェーに出張し、クピオのフィンランド国立公衆衛生研究所を訪問し、セミナーを行い、その後、オスロで開催された第40回ヨーロッパ環境変異原学会に出席し、ポスター発表を行った。山田室長は、9月14日から19日までノルウェーに出張し、オスロで開催された第40回欧州環境変異原学会で、ポスター発表を行った。能美部長は9月25日から10月2日までブラジルに出張し、グアルージャで開催された第10回抗変異発がん抑制機構国際会議で招待講演を行った。本間室長は9月25日から9月28日まで中国に出張し、北京で開催された中国薬品生物検定所創立60周年記念式典に参加し、記念シンポジウムでの招待講演を行った。本間室長は10月22日から10月28日まで米国に出張し、フォートワースで開催された第41回米国環境変異原学会に出席し、ナノ物質の遺伝毒性に関する招待講演を行った。本間室長は11月22日から11月24日まで韓国に出張し、コメント試験に関する国際シンポジウムに参加し、招待講演を行った。能美部長、本間室長、山田室長と増村主任研究官

は12月14日から12月19日までタイに出張し、パタヤで開催された第2回アジア環境変異原会議に出席して、能美部長は座長と招待講演、本間室長は招待講演、山田室長と増村主任研究官はポスター発表を行った。増村主任研究官はその後、突然変異試験に関する研究打ち合わせを行って、20日に帰国した。本間室長は2月2日から2月10日までインドとイギリスに出張し、ベロールで開催された第36回インド環境変異原学会に参加し、DNA二本鎖切断に関する招待講演を行い、その後ハンチントンで開催された、コメット試験に関する国際バリデーション会議に出席した。能美部長と本間室長は、平成23年3月1日から3月4日までフランス、パリのOECD本部で開催された遺伝毒性専門家会議とトランスジェニック動物を用いる遺伝子突然変異試験に関する会議に出席した。能美部長、本間室長、増村主任研究官は、3月6日から10日まで米国、ワシントンD.C.で開催された第50回米国トキシコロジー学会に参加し、能美部長と増村主任研究官はポスター発表を行った。また大会期間中に米国衛生研究所 (NIH) を訪問し、ハイスループット毒性試験の開発状況を視察した。能美部長は3月11日に米国、ニューヨーク、コロンビア大学のHei教授を訪問しセミナーを行った。安井主任研究官は、3月27日から31日までドイツミュンスターで開催された英国とドイツの環境変異原学会が主催する暴露バイオマーカーおよび酸化的DNA損傷の国際ワークショップに出席しポスター発表を行った。

## 研究業績

### 1. 食品添加物等における遺伝毒性発がん物質の評価法に関する研究

低用量域での遺伝毒性リスク評価に関わる *in vivo* および *in vitro* 遺伝毒性試験の評価方法について検討した (厚生労働科学研究費補助金)。

### 2. 統合型毒性試験系による安全性評価手法構築に関する研究

エームス試験菌株におけるヒト DNA ポリメラーゼ  $\eta$  の発現について紫外線感受性を使って調べた。新規 *in vivo* 遺伝毒性試験である *Pig-a* アッセイに関し、各研究施設間における共有化、最適化および改良を行った。*gpt delta* マウスの加齢に伴う遺伝子突然変異の蓄積について検討した。(HS財団受託研究費)。

### 3. 個体レベルでの発がんの予知と予防に関する基盤的研究

*gpt delta* ラットを用いてシリマリンの大腸における抗発がん抗変異作用について検討した (がん研究助成金)。

### 4. 国際的整合性を旨とする医薬品等の品質、有効性およ

### び安全性に関する研究

医薬品中に含まれる遺伝毒性不純物の国際ガイドライン策定のため、米国、EUのガイドラインの特徴を調査した (厚生労働科学研究費補助金)。

### 5. 国際協調により公的な試験法を確立するための手順に関する研究

*in vitro* コメット試験の標準化を目指し、試験条件の検討、許容しうる陰性対照データの標準値を設定した (厚生労働科学研究費補助金)。

### 6. 発生・増殖・情報伝達に関する因子並びに分子の安全性・生体影響評価に関する研究

シグナル伝達に関する阻害剤等の遺伝毒性を評価した (厚生労働省特別研究費補助金)。

### 7. DNAポリメラーゼ $\zeta$ (ゼータ)の遺伝的改変による遺伝毒性閾値形成機構に関する研究

損傷乗り越え DNA ポリメラーゼ $\zeta$ を不活性化させたノックインヒト細胞株およびミスマッチ末端からの伸長活性を増大させたヒト細胞株を作出し、その感受性を検討した (科学研究費補助金 (文部科学省))。

### 8. 食品中成分から生成されるアクリルアミドのリスク管理対策に関する研究

アクリルアミドの遺伝毒性は *in vivo* で精巢に強く発現され、その程度は成熟動物より、幼若動物で顕著に表れることがわかった (厚生労働科学研究費補助金)。

### 9. ナノマテリアルの健康影響評価手法の総合的開発および体内動態を含む基礎的有害性情報の集積に関する研究

ほ乳類培養細胞からなる遺伝毒性試験系を用いて、フラーレン、およびカーボンナノチューブの遺伝毒性を評価した。フラーレンは *in vivo* での *Pig-a* 遺伝子突然変異を誘発しないことが示された。また、カーボンナノチューブは *in vitro* で直径の大きさに依存して染色体の倍数性を誘発することが明らかになった (厚生労働科学研究費補助金)。

### 10. 環境化学物質の生殖細胞に対する遺伝毒性リスク評価法の開発に関する研究

*gpt delta* トランスジェニックマウスに DNA ポリメラーゼ変異を導入して作出した Polk 変異マウスの高感度検出系としての有用性を検討した (地球環境保全等試験研究費)。

### 11. 都市大気中の浮遊粒子成分が動物体内で示す体細胞突然変異と遺伝毒性の評価

東京圏の大気から採取した浮遊粒子から得た抽出物を *gpt delta* マウスの肺中に投与して突然変異の解析を行った (科学研究費補助金 (文部科学省))。

### 12. 化学物質リスク評価における (定量的) 構造活性相関 ((Q) SAR) およびカテゴリーアプローチの実用

## 化に関する研究

肝毒性、腎毒性の *in silico* 評価法の開発、改良を行った。また、*in vivo* 小核試験の予測モデルの構築を行った（厚生労働科学研究費補助金）。

### 13. 食品添加物の規格の向上と使用実態の把握等に関する研究

既に JECFA 等で評価された食品香料と我が国独自の食品香料について、構造活性相関手法を用いて遺伝毒性を予測し、陽性と予測された物質を中心にハイスループット変異原性試験を行い、結果を精査した（厚生労働科学研究費補助金）。

### 14. DNA トポイソメラーゼ I と DNA 修復のクロストークの網羅的解析

内在性 DNA 損傷としての DNA トポイソメラーゼ I の形成と修復機構について解析を行った（科学研究費補助金（文部科学省））。

### 15. DNA 付加体 1 分子による遺伝子変異解析系の構築と閾値の存在の検証

チミジンキナーゼ遺伝子のエキソン5に8-オキソグアニン DNA 付加体を導入して、遺伝子変異頻度を調べた（科学研究費補助金（文部科学省））。

### 16. 食品添加物安全性再評価費・変異原性試験

指定添加物について復帰突然変異試験、umu 試験、染色体異常試験、小核試験、トランスジェニックマウス変異原性試験を実施した（食品等試験検査費）。

## 総合評価研究室

室 長 広 瀬 明 彦

### 概 要

総合評価研究室では、安全性生物試験研究センターの各部と連携して、化審法に基づく新規及び既存化学物質の安全性評価及び化審法の新規化学物質届出業務の電子化に伴う業務を行うとともに、OECD の高生産量化学物質点検プログラムに関わる業務として初期評価文書の作成等を行っている。

研究面では、化学物質リスク評価における定量的構造活性相関とカテゴリー・アプローチに関する研究、用量反応性評価におけるベンチマークドース手法の適用に関する研究、内分泌かく乱化学物質、環境化学物質や水道汚染物質の毒性評価及びこれらの化学物質による一般毒性及び生殖発生毒性に関する研究、ナノマテリアルの健康影響評価法に関する研究等を行っている。

行政支援業務としては、食品安全委員会、水質基準逐次改正検討会、化学物質安全性評価委員会等に参加し、

食品関連物質や工業化学物質等の安全性確保のための厚生労働行政に協力している。

### 業務成績

#### 1. OECD 高生産量化学物質の初期評価文書の作成及び発表

OECD 高生産量化学物質安全性点検計画に関する業務として、初期評価文書を作成・提出し、初期評価会議で討議している。平成22年10月に開催された第31回高生産量化学物質初期評価会議では、日本政府として Picric acid (CAS: 88-89-1) および 1,1'-(1,1-Dimethyl-3-methylene-1,3-propanediyl) bisbenzene (CAS: 6362-80-7) の計 2 物質の初期評価文書と Monosodium 4-amino-5-hydroxynaphthalene-2,7-disulphonate (CAS: 5460-09-3) および 1,3,5-Tris(3,5-di-tert-butyl-4-hydroxybenzyl) isocyanuric acid (CAS: 27676-62-6) の計 2 物質の選択的初期評価文書を提出し合意された。平成23年4月に開催された第32回高生産量化学物質初期評価会議では、日本政府として Hydroxybenzaldehyde (CAS: 90-02-82) および Benzotrifluoride (CAS: 98-08-8) の計 2 物質の初期評価文書と Naphthylisobutylether (CAS: 2173-57-12) および 2,2',3,3'-Tetrachloro-4,4'-diaminodiphenylmethane (CAS: 4240-73-3) の計 2 物質の選択的初期評価文書を提出し合意された。平成22年6月には、フランスで開催された「OECD 第3回有害性評価タスクフォース会議」に出席し、加盟各国独自の評価文書および影響指標を限定した選択的評価文書の利用に関する事例や QSAR やカテゴリーアプローチの積極的な導入等に関する議論を行った。高生産量化学物質の初期評価文書の概要及び会議の内容については学術誌に公表した（化学生物総合管理, 6, 180-188, 2011; 6, 189-198, 2011）。

#### 2. 新規化学物質の安全性評価業務

昭和48年10月16日に制定され、昭和49年4月に施行された「化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）」は、難分解性・低蓄積性の性状を有する新規化学物質について、毒性試験（いわゆるスクリーニング毒性試験）の実施を要求している。この試験結果から、人健康影響に関して第2種監視化学物質に相当するか否かの判定を行い、その結果が公表されている。当室では、この試験結果の評価作業を行うとともに、これら試験結果のデータベース化を行っている。平成22年度は計 381 の新規化学物質についての評価作業を行った。

#### 3. 既存化学物質の安全性評価業務

厚生労働省では、OECD 高生産量化学物質安全性点検計画の業務に関連した化合物と国内独自の既存化学物質について、国内の受託試験機関に委託してスクリーニング毒性試験を実施している。当室では、これらの試験

計画書の確認と最終報告書のピアレビュー及び評価作業を行うとともに、これら試験結果のデータベース化を行っている。平成22年度は24物質についての43試験の試験計画書の確認作業を行った。さらに、提出された最終報告書案のピアレビュー及び評価作業を行った。

#### 4. 化審法の届出業務の電子化に伴う業務

行政改革の一環として、新規化学物質の届出業務の電子化が進められている。本年度は、昨年に引き続き、化審法新規化学物質データベースにデータを入力し、試験法や評価法等についての問題点を検討するとともに、新たに申請された新規化学物質の評価作業をサポートした。さらに、三省（経済産業、環境、厚生労働）合同のデータベースの更新作業に協力した。

#### 5. その他（各種調査会等）

WHO 飲料水水質ガイドライン改定専門家会合、EFSA 科学委員会のナノテクノロジーに関するワーキンググループ会議、OECD 有害性評価タスクフォース会議、安衛法 GLP 評価会議及び化学物質 GLP 評価会議に出席すると共に、安衛法 GLP 査察専門家、食品添加物安全性評価検討会、水質基準逐次改正検討会、化学物質安全性評価委員会、内閣府食品安全委員会（器具・容器包装専門調査会、化学物質・汚染物質専門調査会）、環境省新規 POPs 等研究会及び中央環境審議会水環境部会環境基準健康項目専門委員会の活動に協力した。

### 研究業績

#### 1. 化学物質リスク評価における定量的構造活性相関とカテゴリー・アプローチに関する研究

本研究では、化学物質のリスク評価を実施する上で必要とされる毒性を予測するにあたり、評価に必要不可欠である試験項目について、定量的構造活性相関予測やそれに関する研究領域において、国際的に使用されているいくつかの構造活性相関コンピュータープログラムの検証を行い、問題点の洗い出しを行うと共に、予測精度を上げるためのアルゴリズムの改良や、数多くの物質を効率的に精査するための物質のカテゴリ化に関する研究を行っている。平成22年度は、下記3つの研究を行った。

- (1) 化学物質リスク評価における（定量的）構造活性相関 [(Q) SAR] およびカテゴリーアプローチの実用化に関する研究

ジメチルアニリンの構造異性体についてカテゴリーアプローチ適用の検討を行い、OECD 高生産量既存化学物質点検プログラムにおける評価書を作成した。

(Q) SAR 手法の開発においては、反復毒性試験における標的臓器毒性（脾臓、骨髄、および、甲状腺毒性）について、既存化学物質安全性点検データ及び関

連する文献情報をもとにそれぞれ4種の Rapid Prototype アラート構築に成功した。昨年度構築した肝毒性予測モデルについては、特徴部分構造と計算記述子を組み合わせることで精度向上が可能であることが示された。さらに、カテゴリーアプローチや (Q) SAR の効果的な利用に関するガイダンス作成に向けて、米国 EPA や EU, OECD の動向について情報収集を行った [厚生労働科学研究費補助金]。

- (2) 構造活性相関手法による有害性評価手法開発

昨年度に引き続き、既存化学物質点検事業で実施された反復投与毒性試験および反復投与生殖毒性併合試験の報告書や NTP レポートをデータベース化するための項目について検討を行った [一般試験研究費]。

- (3) 化審法における既存化学物質及び新規化学物質の毒性評価に関する研究

新規に入手した既存化学物質の7試験データ及び新規化学物質の70試験データに関して、安全性評価業務と評価手法の研究のために、構造活性相関解析用のデータベースに化学物質構造の入力作業を行った [一般試験研究費]。

さらに、平成22年10月に開催された「OECD SIAM・QSAR 合同会合」及び「第4回 (Q) SAR アプリケーション・ツールボックス・マネジメント・グループ会議」に出席し、QSAR の結果を OECD 高生産量化学物質安全性点検計画における初期評価文書に反映させるための可能性や OECD QSAR ツールボックスの次期開発計画について議論を行った。

#### 2. 水道水に係わる毒性情報評価に関する研究

本研究は、飲料水中の化学物質の基準値設定及び改定に資するために、食品安全委員会や WHO が新たに健康影響を評価した化学物質や、新たに健康影響が懸念される化学物質の毒性情報を収集し整理すると共に、化学物質の安全性評価手法に関する最新知見の動向調査を行い、得られた知見の基準値設定等への適用の妥当性について検証することを目的としている。本年度は、環境経路暴露により健康影響が懸念される銀について、体内動態および毒性に関する情報を収集・整理するとともに、最新の安全性評価手法として近年注目されつつある、化学物質の複合暴露によるリスク評価手法及び作用機序に基づいた用量反応評価手法について国際動向を含めた最新情報を収集しまとめた [厚生労働科学研究費補助金分担研究]。さらに、平成22年12月に東京で開催された「WHO 飲料水水質ガイドライン（第4版）専門家会議」及び「WHO 水質関連専門家合同戦略会議」に出席し、ガイドライン発刊前の最終作業として、各章で解決すべき事項の検討や WHO による水質保全関連活動における統合的戦略の作成に関する討議を行った。

### 3. ナノマテリアルの安全性確認における健康影響試験法に関する研究

ナノテクノロジーは、その新機能や優れた特性を持つ物質を作り出す技術により国家戦略としてその開発が進められており、その中心的な役割を果たす、ナノマテリアルの生体影響に関しては、多くの点で未知である。本研究では、これらナノマテリアルの安全性確認に必要な健康影響試験法に関する調査、開発検討を行っている。「ナノマテリアルの健康影響評価手法の総合的開発および体内動態を含む基礎的有害性情報の集積に関する研究」では、OECDの作業グループのSG3に対応した試験データの収集のために、フラーレンと単層カーボンナノチューブの皮膚刺激性試験と皮膚感作性試験を行った〔厚生労働科学研究費補助金〕。さらに、「ナノマテリアルの潜在的慢性影響の評価手法確立に関する研究」では、毒性部および生活衛生化学部と共同で、フラーレンやナノチューブを気管内投与する場合の分散法や生体内分析法の検討を行った〔一般試験研究費〕。本研究分野に関連して、欧州食品安全機関（European Food Safety Authority：EFSA）科学委員会のナノテクノロジーに関するワーキンググループ会議（第3回、第7回、第10回、第12回）に参加し、食品及び飼料へのナノ科学及びナノ技術の適用により生ずる潜在的なリスクに関するリスク評価ガイダンスの作成についての討議に参加した。本ガイダンスは、平成23年5月10日にEFSAから公開された。

### 4. 用量反応性評価におけるベンチマークドース法の適用に関する研究

食品中の化学物質に関する健康影響評価における用量反応評価において有用であるベンチマークドース法の適用のためのガイダンス案を作成することを目的とした研究を行っている。本年度は、国際的なベンチマークドース適用の現状調査において、IPCSやEFSA等の用量反応性評価ガイダンスや疫学データを対象としたベンチマークドース適用事例を整理し、現状と問題点を整理するとともに、ベンチマークドースの算出手法の検討研究において国際評価機関や化審法でTDIやNOEL等が評価された物質について、ベンチマークドースの計算が可能な計数データを整理し、計算結果とNOAELとの比較検証を行った〔食品健康影響評価技術研究委託費〕。

### 5. 国際協調により公的な試験法を確立するための手順に関する研究

OECD-EDTAで提案された化学物質の内分泌かく乱性評価 *in vitro* スクリーニング試験法のうち、行政的有用性が期待される方法について、OECDにガイドライン化に向けた研究を進めている。HeLa9903細胞を用いたエストロゲン受容体 $\alpha$ （ER $\alpha$ ）転写活性化試験法

（HeLa法）では、追加の国内1施設におけるバリデーション測定を開始した。米国で開発されたLumi-cell法については、バリデーション測定が終了し、バリデーション結果を基にしたICCVAMガイドライン案のpublic peer reviewが実施された。さらに、我が国で開発されたアンドロゲン受容体転写活性化法について、これまでに得られている国内バリデーション結果をもとにバリデーションレポート及びガイドライン案を作成し、OECDにピアレビュー提案を行った〔厚生労働科学研究費補助金〕。

### 6. トキシコゲノミクスデータベースを活用した医薬品安全性評価に関する研究

（独）医薬基盤研究所、製薬企業と共同で実施している研究プロジェクトにおける、各種ワーキンググループにおいて解析結果をもとに今後の研究の進め方について議論した〔一般試験研究費〕。

### 7. 分化・増殖・シグナル（情報）伝達に関する因子並びに分子の安全性・生態影響評価に関する研究

ベンゾトリアゾール系紫外線吸収剤の毒性に見られる性差および年齢差のメカニズムを明らかとするために、COS-1細胞を用いたtwo-hybrid assayを行い、PPAR $\alpha$ 、PPAR $\beta$ 、PPAR $\gamma$ 等の主要な核内受容体との反応性を調査した〔厚生労働科学研究費補助金 特別研究〕。

### 8. 医薬品の品質、有効性及び安全性確保のための手法の国際的整合性を目指した調査と妥当性研究

医薬品における金属不純物の規制に関するガイドラインの作成を目的としたQ3D専門家WGに参加して討議に加わると共に、日本側の作業分担として水銀の健康影響評価書のドラフト案を作成した〔厚生労働科学研究費補助金〕。

### 9. 水道用塗料の経年劣化に伴う溶出の実態等に関する研究

水道で使用される配管（鉄製）の鉄錆を防止あるいは抑制するため、配管の内面塗装に使用されている管更生工用エポキシ樹脂塗料の硬化剤原料の一つである4,4'-メチレンジアニリン（MDA）が経年劣化により溶出する可能性に関する検討と有害性評価研究によるリスク評価を行う研究において、MDAの毒性情報をとり纏めると共に、発がん性に関する定量評価を行った〔厚生労働科学研究費補助金〕。