

創立150周年記念衛研シンポジウム (2024年8月6日)

化学物質の安全性確保のための レギュラトリーサイエンス

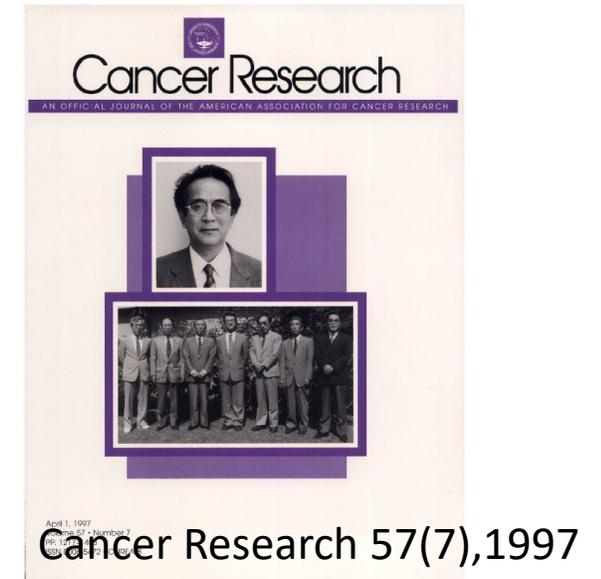
安全性生物試験研究センター長
平林 容子



食品医薬品等安全センター構想と 安全性生物試験研究センターの設立

生活環境に次々と導入されてきた様々な化学物質（サリドマイド、砒素、メチル水銀、PCB、等）の毒性による健康への影響が社会的に注目され始め、その行政的要求に対処するための機構として設立

1978（昭和53）年	1月1日	安全性生物試験研究センター設立
同年	2月	用賀庁舎8号館竣工



安全センターの活動：行政関連

医薬品

- 発熱試験（国家検定）の実施／医薬品の安全性試験の実施に関する基準（GLP）の導入（昭和57年3月31日通知）、並びにこれに対応する医薬品の安全確保のための試験法のガイドライン制定及びGLP評価委員会（2014年PMDAに移管）

化学物質

- 化審法に基づく新規化学物質の審査（2003年三省合同審議会に移管）／農薬・残留農薬の安全性評価業務（いわゆる農薬安評、2003年食品安全委員会に移管）／食品用器具・容器包装のポジティブリスト対応検討会
 - ✓ 残留農薬規制のためのポジティブリスト制（平成18（2006）に施行）
 - ✓ OECD高生産量化学物質の安全性点検作業（平成2（1990）年開始）への協力
 - ✓ ダイオキシン耐容一日摂取量（TDI）の設定（平成10（1999）年）
 - ✓ 多層カーボンナノチューブ MWNT-7のIARC（国際がん研究機関）によるgroup2Bの認定（平成27（2015）年）

食品

- 食品添加物安全性評価検討会（既存添加物・指定添加物）
 - ✓ ブチルヒドロキシアニソール、臭素酸カリウム、アカネ色素などの発がん性にかかる試験研究

安全センターの活動：国際関連

- WHOが計画した国際化学物質安全性計画（IPCS）への参加（昭和50（1980）年～）
- インドネシア共和国国立医薬品食品品質管理試験所技術協力事業（昭和59（1974）年～平成元（1989）年）
- 日米科学技術協力協定に基づく化学物質の安全性評価に関する意見交換・情報収集のための海外専門家との交流事業（非エネルギー部門、テーマ 毒性学： 昭和56（1981）～平成10（1998）年）
- 化学物質リスクアセスメント確立に関する米国環境科学研究所（NIEHS）と合同の日米会議の開催（昭和56（1981）～平成5（1993）年に計4回）、
- 国際協力事業団（JICA）による中国天津薬品検験所技術プログラム（平成6（1994）年～平成10（1998）年）及び中国医薬品安全性評価センタープロジェクト（平成11（1999）年～平成18（2006）年）
- 韓国医薬食品局（KFDA）国立毒性学研究院とのレギュラトリーサイエンス共同研究ワークショップ開催（平成12（2000）～平成18（2006）年に計3回）
- OECD試験法ガイドラインプログラム／代替試験法国際協力（ICATM）等への参画（平成21（2009）年～）
- WHO Chemical Assessment Network拠点メンバーとして登録（平成28（2016）年～）



安全センターの組織と役割



- 生物資源（実験動物や細胞など）を用いた業務関連物質（化学物質、食品、医薬品など）の安全性に関する研究や試験
- 科学的根拠に基づく毒性予測を含む総合的な安全性評価や、その方法論、特にヒトへの外挿性を考慮したより適切な評価手法に関する研究
- 動物福祉の3Rsの精神に基づく適正な動物試験の実施と、安全性評価のあり方を巡る国際的な動向への対応

毒性部

Div. of Cellular & Molecular Toxicology

部長 北嶋 聡

1964年(昭和39年)10月に2室15人体制で発足、以来6室を有する部に発展

2024年10月で60年目

所掌業務

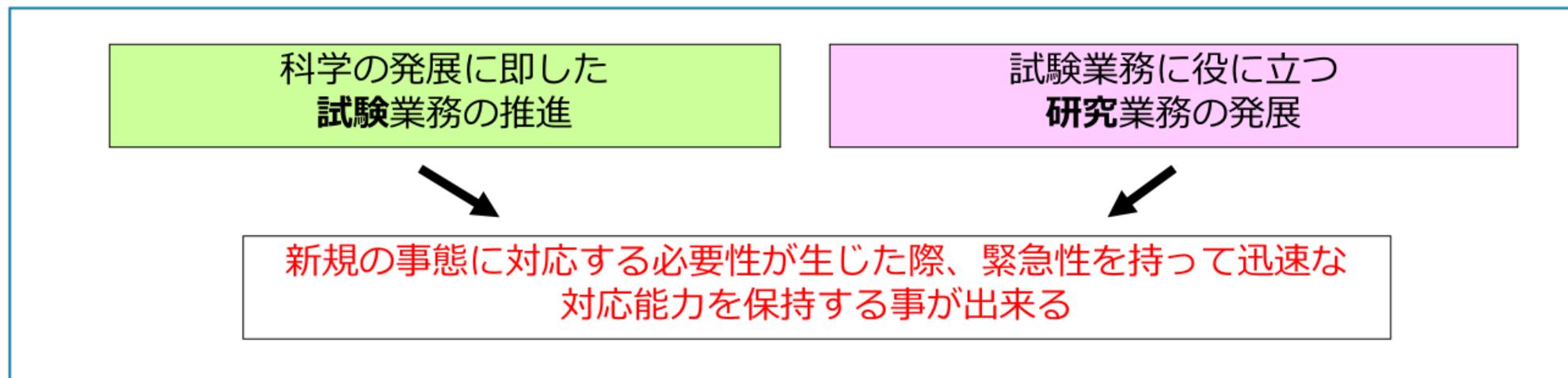
業務関連物質の毒性学的試験並びに実験動物の飼育及び管理並びにこれらに必要な研究を行うことをつかさどる



公衆衛生上の主な社会問題と毒性部の果たした役割（例示）

1. サリドマイド事件	12. 合成甘味料サイクラミン酸塩（一般名チクロ）の使用禁止
2. イタイイタイ病とカドミウム汚染	13. 照射食品の安全性
3. 缶入りオレンジジュース中毒事件	14. 筋肉注射による大腿四頭筋拘縮症事件
4. 薬物乱用問題	15. 食品添加物BHAの発がん性問題
5. アンブル入り風邪薬中毒事件	16. 食品添加物臭素酸カリウムの発がん性問題
6. 食品添加物AF-2の発がん性	17. 人工腎臓透析器による眼障害
7. 米ぬか油中毒事件（油症）、PCB汚染	18. バイオテクノロジー応用医薬品の非臨床における安全性評価
8. 水俣病とメチル水銀汚染	19. 中国製痩せ薬による死亡事件
9. スモン病	20. 健康食品の安全性問題(1)-ガルシニアによる精巣毒性
10. 有機塩素系農薬による牛乳汚染	21. 健康食品の安全性問題(2)-アガリクスを含む製品による発がんプロモーション作用
11. 食用色素（赤色101号および食用紫1号）	22. アスベストに良く似た形状のカーボンナノチューブの発がん性

試験業務と研究業務の有機的連携によるバランスの取れた推進



将来展望

長期反復毒性試験の評価には長い時間と多額の費用がかかる

毒性学研究では、網羅性・信頼性を担保した上での分子メカニズムに依拠した毒性予測法、あるいは迅速、高精度、省動物に適った新規毒性試験法の開発が求められている



・ 毒性学
・ 生理・薬理・病理学
・ 分子生物学
・ 獣医学/実験動物学

要請

・ 動物代替法
・ OECDにおけるAOPプロジェクト
・ 生産量が急増する新規化学物質の
安全性評価
・ ヒトへの外挿性の向上

<重点課題> オミクスとインフォマティクスとの融合による
迅速、高精度、省動物に適った毒性予測法の開発

- ・ 遺伝子発現変動解析 (Percellomeトキシコゲノミクス)
- ・ エピジェネティクス機構解析、インフォマティクス/AIの利用
- ・ ノンコーディングRNAやエクソソームRNAの発現解析
- ・ ナノマテリアルの吸入ばく露解析
- ・ 短期小規模吸入曝露評価系の開発/情動認知行動解析
- ・ シグナルかく乱作用に基づく新規ヒト発生毒性試験法の開発
- ・ 発達神経毒性(DNT)の評価のための新規評価手法の開発
- ・ in vivoイメージング技術 (小実験動物用MRI) やバイタルサイン
をエンドポイントとした急性毒性の近代化 etc.

新しい毒性概念の導入

新たな試験法の樹立

毒性分子機構の解明



悪影響の未然防止
&
安全な生活の維持

■薬理部の業務方針

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、医薬品の薬効薬理や安全性薬理、化学物質の体内動態や毒性発現メカニズムに関する研究業務を行っている。

特に、ヒトiPS細胞技術、生体模倣システム（MPS）、高精度トランスクリプトーム解析、*in silico*などのイノベーションをもとにして、ヒトに対する予測性を高める薬理試験法の確立と標準化を目指している。

化学物質の発達神経毒性評価法の構築

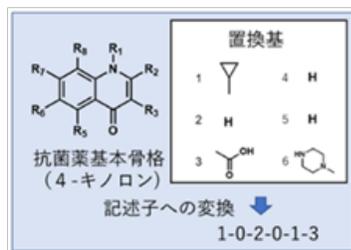
化学物質の構造情報によるin silico評価法

既存の化学物質データセット

- 405 substances in a previous report (*Neurotoxicol Teratol*, 52: 25-35, 2015)
- 1. Substances with **strong evidence for DNT** (96) } **DNT-positive**
- 2. Substances with **one report on DNT** (89) }
- 3. Substances with **no evidence for DNT** (220) → **DNT-negative**

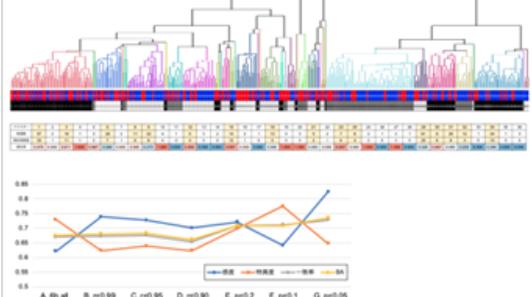
分子記述子による階層的クラスタリング

分子記述子



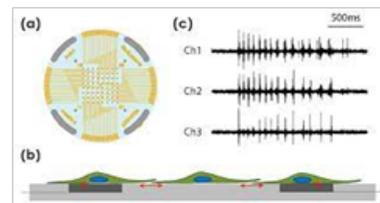
東北大HPより

クラスタ解析



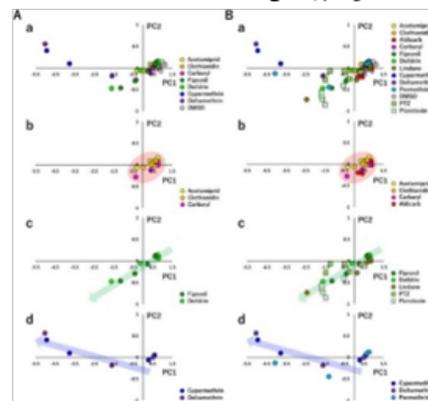
ヒトiPS神経細胞を用いたin vitro評価法

MEAによる神経活動の記録



Axion社のHPより

メカニズムの予測



Toxicology in Vitro 93, 105668 (2023)

現在、OECDで慢性曝露によるMEA評価を検証中であるが、急性曝露のMEAデータで予測性があることを明らかにしており、米国EPAなどとデータの解析中である。

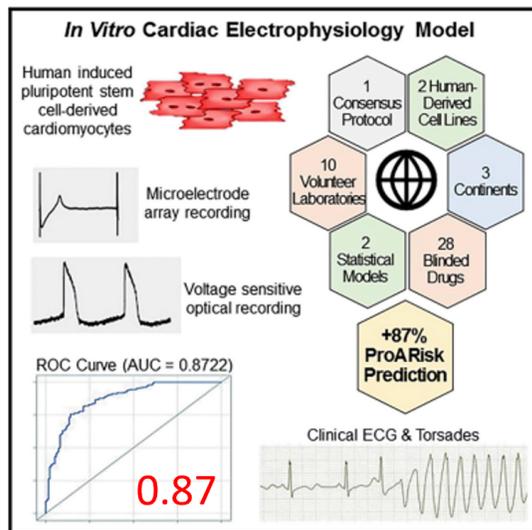
MEA:多点電極アレイ

ヒトiPS心筋細胞を用いた心臓安全性評価法の開発と標準化

不整脈リスク予測の国際検証試験

Cell Reports 2018 Sep 25;24(13):3582-3592. Resource
International Multisite Study of Human-Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes for Drug Proarrhythmic Potential Assessment

Graphical Abstract



Authors

Ksenia Blinova, Qianyu Dang, Daniel Millard, ..., Norman Stockbridge, David G. Strauss, Gary Gintant



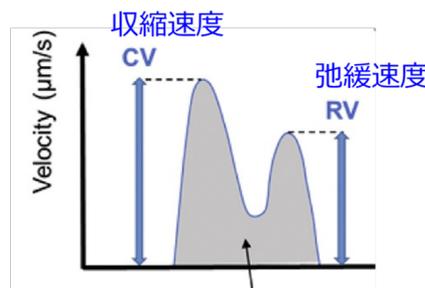
心不全リスク予測の国際検証試験



FDAなど日米欧から22施設が参加。12化合物(ブラインド)を用いて、収縮など評価。陽性対照はドキシソルビシン。

- 収縮
- 細胞毒性
- バイオマーカー
- ミトコンドリア

インピーダンス、力学、Ca、イメージング、EHT、3D アポトーシス
 Troponin、BNP、LDH、miRNA
 酸素消費量、形態変化



NIHS/JiCSA				Agilent (impedance)		
Contractility	BPM	CV	RV	Contractility	BPM	Beating Amplitude
Doxorubicin	↓	↓	↓	↓	↓	↓
BMS-986094	↑	↓	↓	↑		↓

ヒトiPS心筋を活用し、産官学で国際連携のもと、医薬品の心毒性評価系の開発と国際標準化を進めている。これをもとに、PM2.5など化学物質による心毒性評価が期待される。

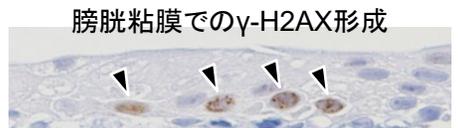
食品添加物や生活環境にある化学物質について、実験動物を用いた投与試験で、病理学的に全身への影響を詳細に調べることによって、ヒトが摂取しても安全な量の基準となるデータの収集や、遺伝子解析技術や遺伝子改変動物を用いた環境中の化学物質の毒性・発がん機序の解明や安全性評価の新手法の開発も進めています。

主な研究課題

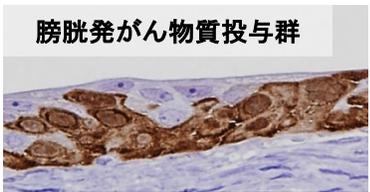
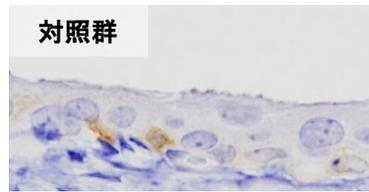
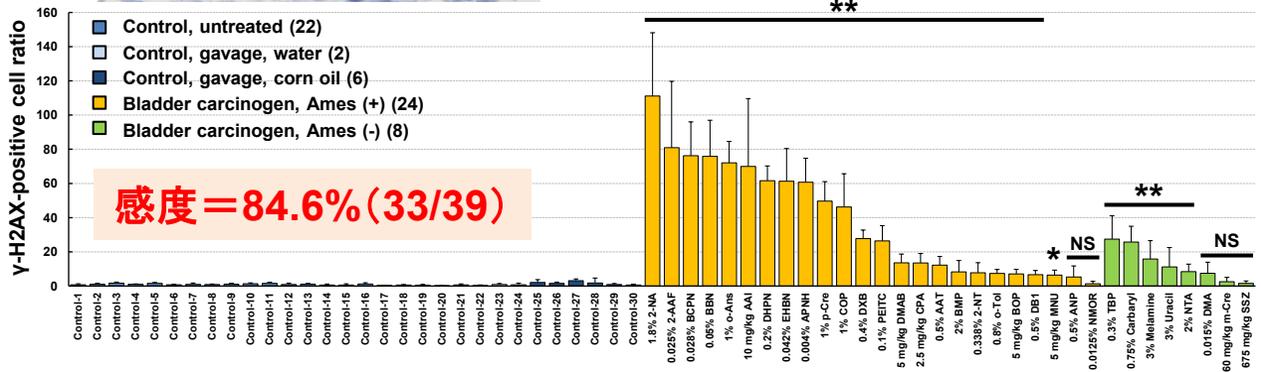
- 経気管内噴霧投与方法による急性吸入毒性試験法の開発
- 低分子アミド化合物が誘発する細胞質内封入体の毒性学的意義
- 病理学的検索による発がん物質の早期検出法開発
- 内分泌かく乱物質の迅速かつ効率的な検出法の開発
- 二酸化チタンナノ粒子の安全性評価に関する研究
- 腎毒性の可逆性に関する研究

病理学的検索による発がん物質の早期検出法開発

ラット病理標本を用いた免疫組織化学的解析により、化学物質の腎臓/膀胱発がん性を短期間で評価できる手法を開発



DNA損傷マーカー(γ-H2AX)を指標として、膀胱発がん物質を高感度に検出可能

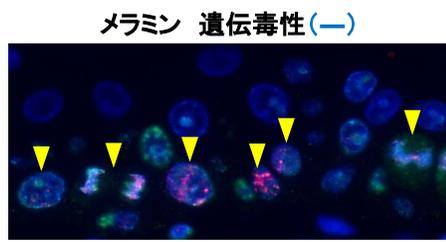
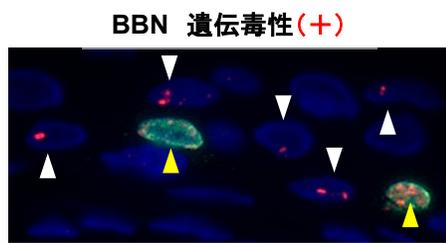


幹細胞マーカー(ALDH1A1)の併用で検出感度はさらに向上

長期間の発がん性試験を短期試験に置き換えることで、動物実験の3Rに貢献

論文発表

Arch Toxicol, 97:3197-207, 2023
 J Toxicol Pathol, 35:283-98, 2022
 Toxicol Sci, 189:51-61, 2022
 Arch Toxicol, 95:715-26, 2021, etc.

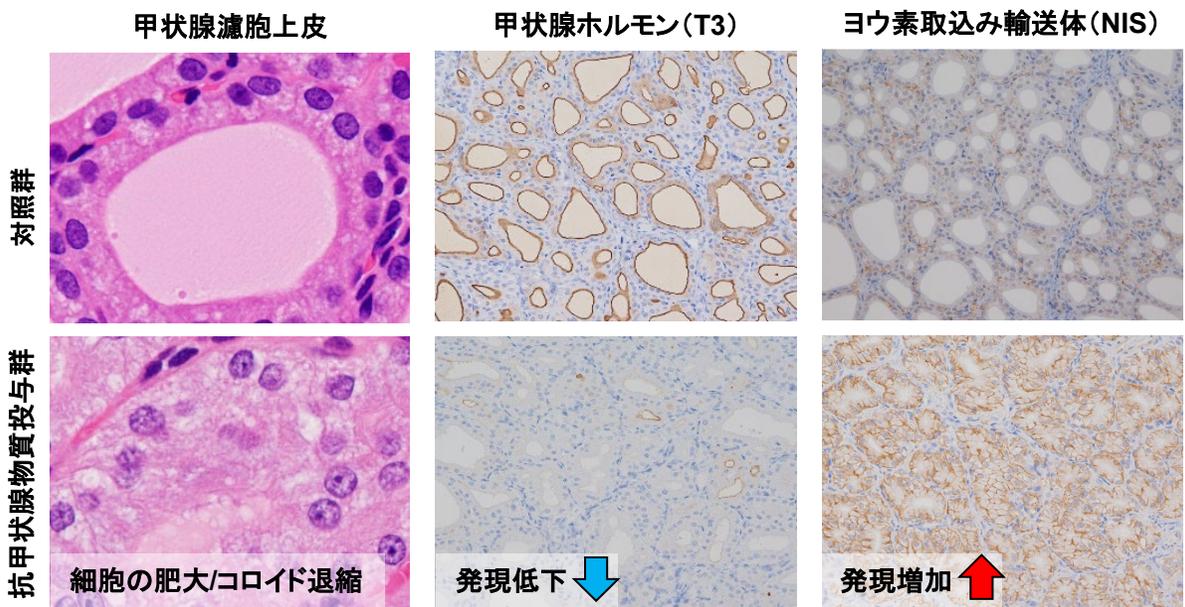


γ-H2AXのみ陽性(▽)
 γ-H2AX/Ki67共陽性(▽)

細胞増殖マーカー(Ki67)との二重染色により、発がん機序の違い(遺伝毒性の有無)を推定

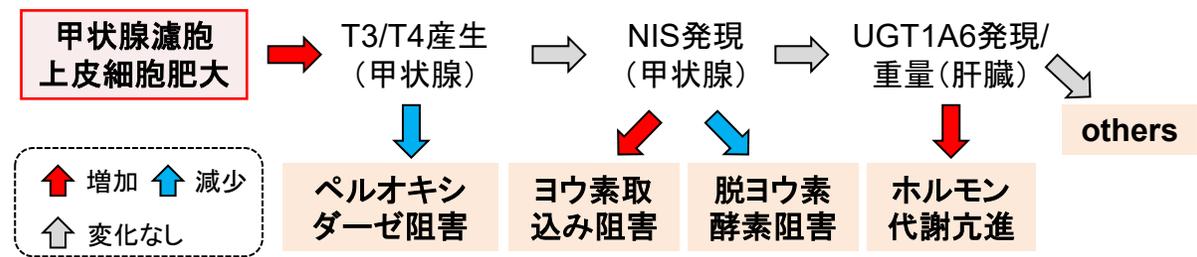
内分泌かく乱物質の迅速かつ効率的な検出法の開発

甲状腺機能低下は甲状腺がん/次世代影響のリスク要因
 → 甲状腺機能かく乱物質の早期検出が必要



- ・ 甲状腺の病理所見は血中ホルモン値よりも鋭敏な指標
- ・ 臓器重量/免疫染色の併用によって機序の推定が可能

ラット28日間投与試験における抗甲状腺作用機序の推定

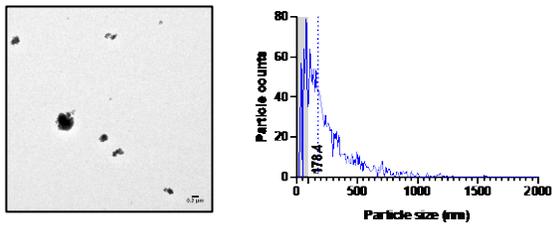


効率的な抗甲状腺物質の早期検出法を開発し、国際標準化を目指す

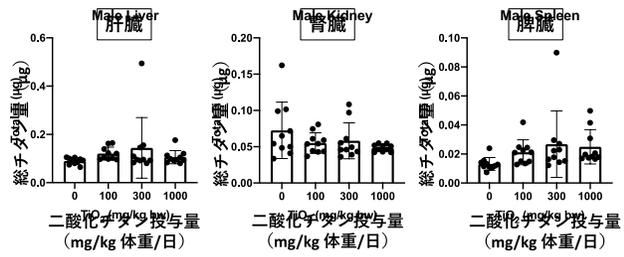
論文発表 J Appl Toxicol, in press; J Appl Toxicol, 42:1603-17, 2022

二酸化チタンナノ粒子の安全性評価に関する研究

電子顕微鏡による二酸化チタンナノ粒子の二次粒径分布解析

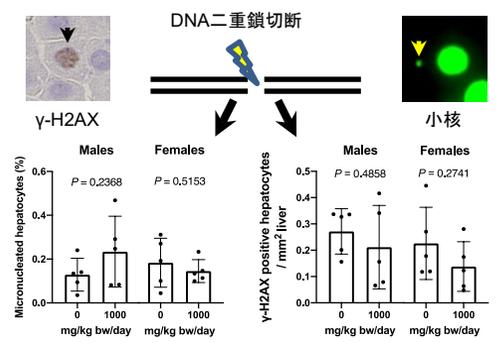


ラット主要臓器中のチタン量解析

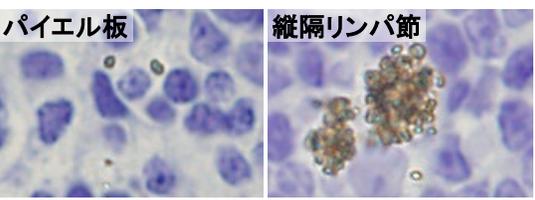


DNA鎖切断および染色体異常

A. 肝臓におけるγ-H2AXおよび小核形成

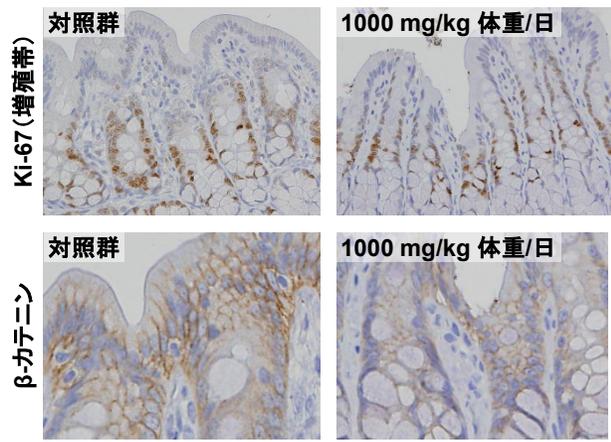


B. 二酸化チタン粒子沈着組織のγ-H2AX染色



肝臓および粒子沈着組織でDNA鎖切断および染色体異常の誘発を示す所見は認められなかった

ラット大腸陰窩の免疫組織化学的検査



増殖帯の伸長、異常陰窩を示唆するβ-カテニンの核・細胞質移行は認められなかった

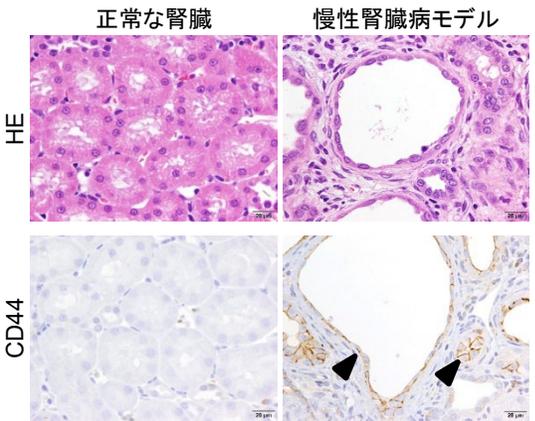
結論

一般毒性、蓄積性、DNA鎖切断および染色体異常の誘発、および大腸異常陰窩を示唆する所見は認められず、超微小粒子径二酸化チタンの反復経口投与による毒性影響は見られなかった

論文発表 Part Fibre Toxicol, 20:23, 2023

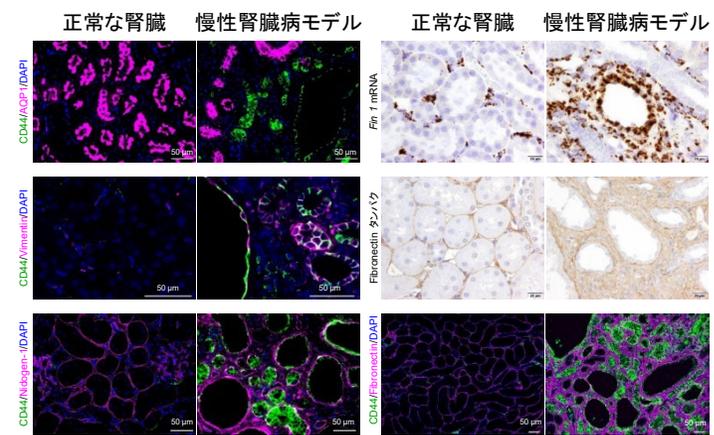
腎毒性の可逆性に関する研究

線維化病変におけるCD44の発現



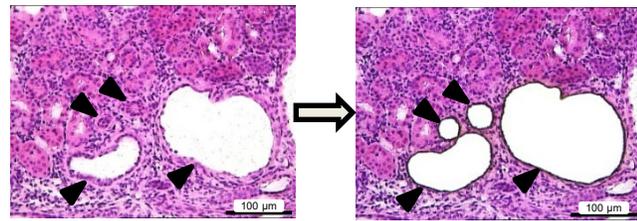
CD44は線維化病変の拡張/萎縮尿細管に発現する

上皮間葉転換に関わる因子とCD44との関連

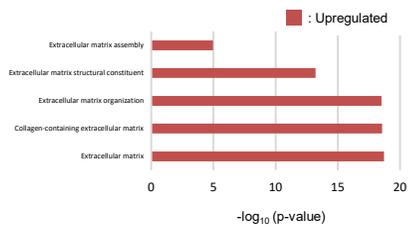


CD44は部分的上皮間葉転換の生じた尿細管において細胞外基質の産生を誘導する

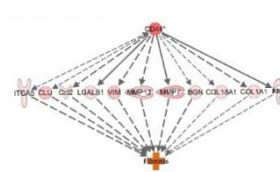
レーザーマイクロダイセクションによる拡張/萎縮尿細管の採材およびマイクロアレイ



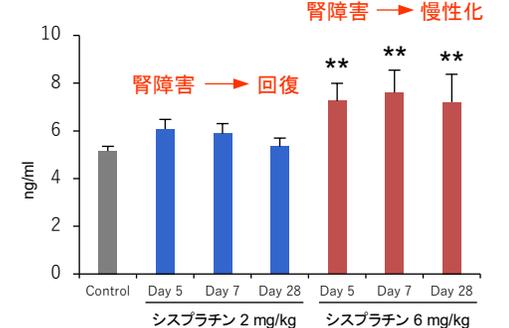
Gene ontology解析



パスウェイ解析



血清中CD44値

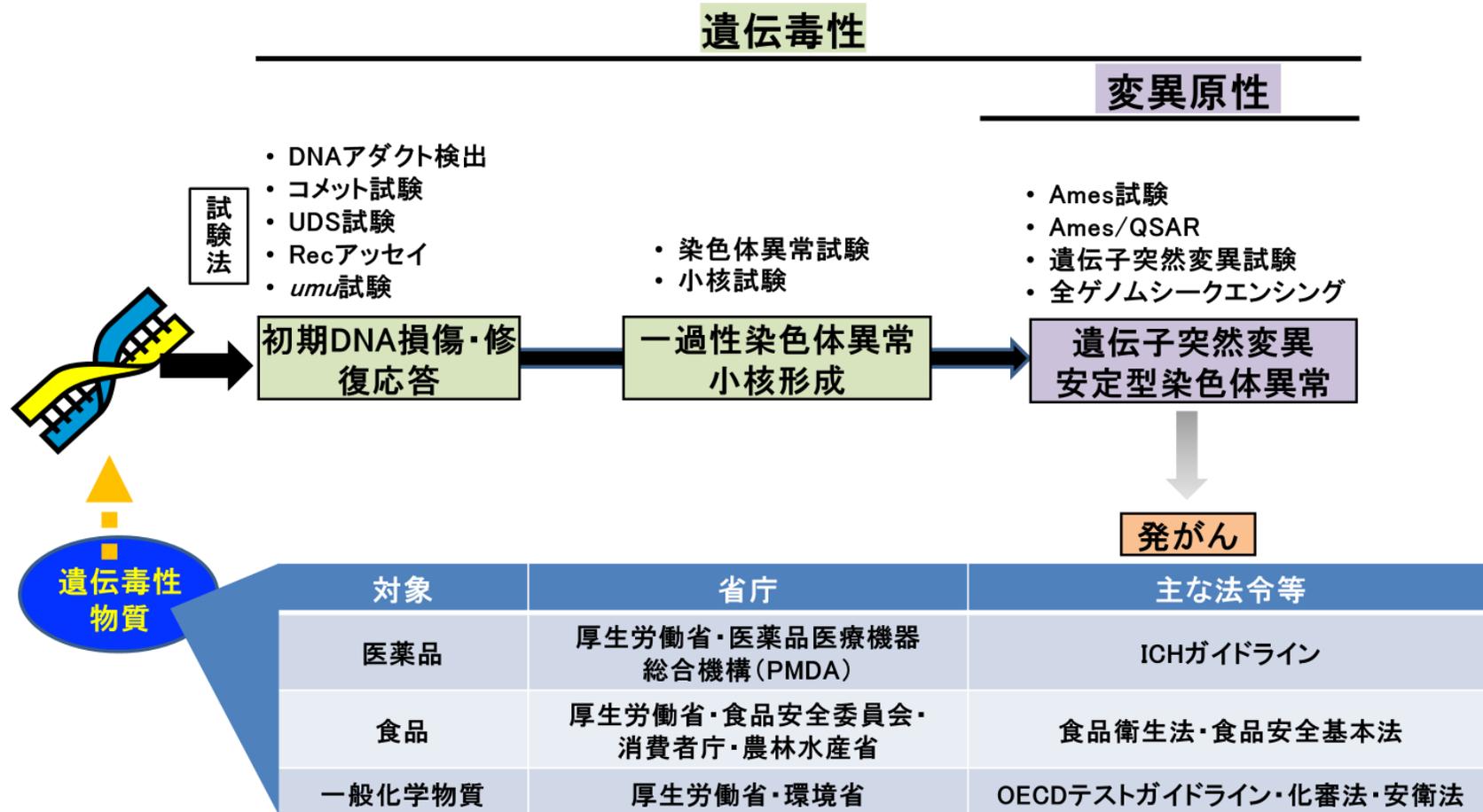


CD44は腎毒性の可逆性の指標となり得る

論文発表

J Toxicol Pathol, 37:55-67, 2024;
J Appl Toxicol, 44:455-469, 2024;
J Appl Toxicol, 41:607-617, 2021

ゲノム安全科学部におけるレギュラトリーサイエンスの概略

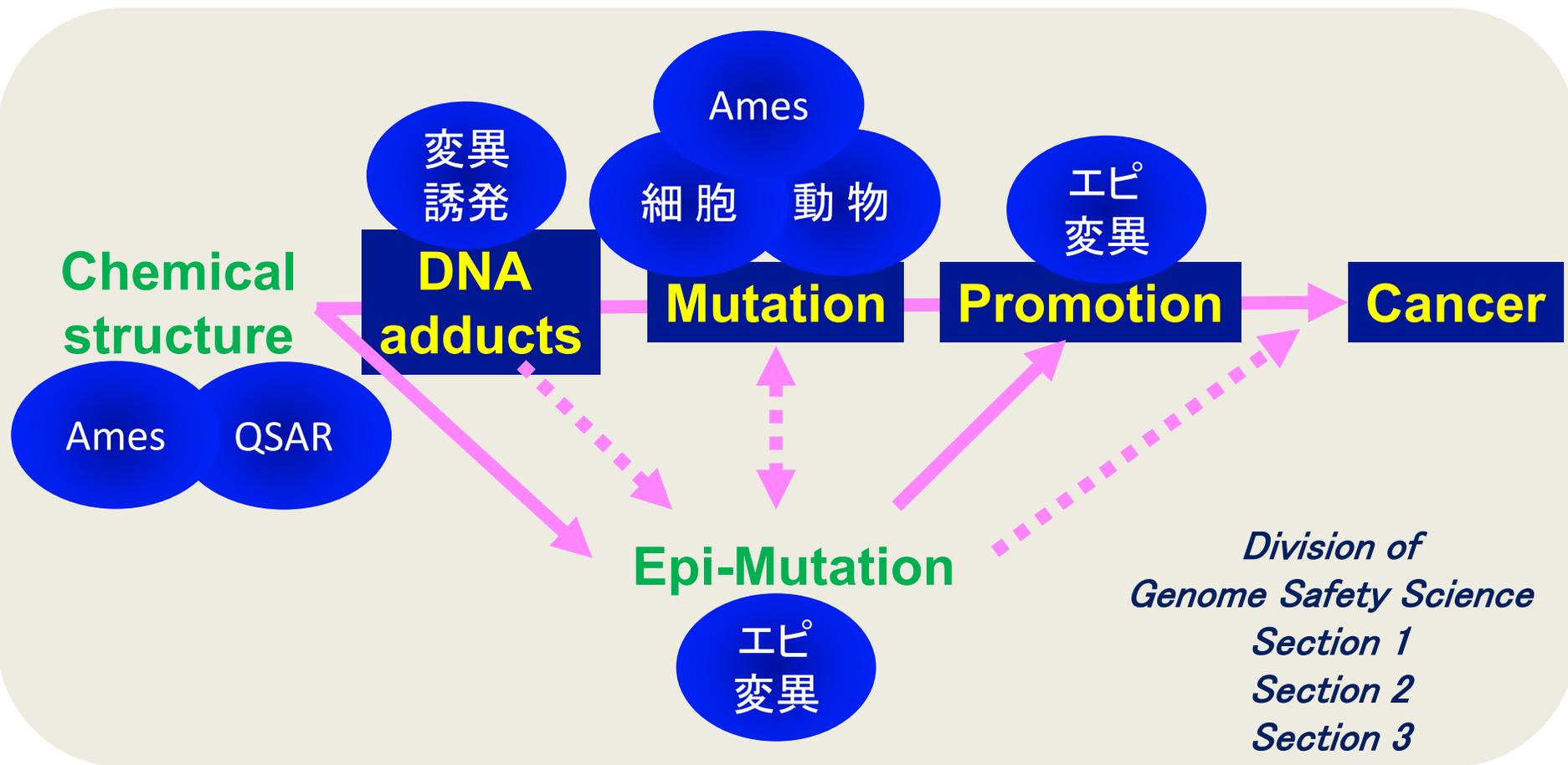


ゲノム安全科学部の研究方針

遺伝毒性発現メカニズム等に基づく毒性評価



NIHS
CBSR



動物実験代替法
など新規試験法
の公定化支援
Section 4
(JaCVAM)



遺伝毒性(ゲノム毒性)を指標とした化学物質の発がん性予測
並びに各種毒性試験の公定化

安全性予測評価部 Div. of Risk Assessment

部長 増村健一

安全性予測評価部のルーツ

平成元年5月：

毒性部評価研究室が新設（室長は中舘正弘先生）

平成3年4月：

安全性生物試験研究センターの省令室「総合評価研究室」誕生

（室長は中舘正弘先生→長谷川隆一先生→江馬眞先生→広瀬明彦先生）

平成27年4月：

総合評価研究室の業務を引き継いだ第一室，薬理部新規試験法評価室（JaCVAM）の振替による第二室、安全情報部第四室の振替による第三室からなる「安全性予測評価部」がスタート（部長は広瀬明彦先生）

同年10月にインシリコ評価技術に関する研究を所掌業務とする第四室が設置

令和6年4月：

JaCVAM事務局を担う第二室がゲノム安全科学部に振り替えられ、安全性予測評価部は3室体制に

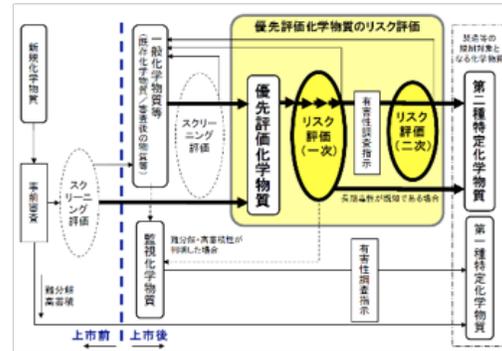


安全性予測評価部では、化学物質の安全性に関する情報を収集し、毒性試験結果に基づいて化学物質の健康影響を予測・評価する手法を研究しています。

第一室 化学物質の安全性総合評価

・ 化審法に関する研究業務

- 化審法(化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律)における新規化学物質、既存化学物質の毒性評価の行政支援
- スクリーニング評価とリスク評価の評価書原案作成



- ・ 室内空気環境汚染化学物質の有害性評価
- ・ 家庭用品中化学物質の有害性評価
- ・ 医薬品の品質、有効性及び安全性確保のための規制の国際調和の推進に係わる研究
 - ICH(医薬品規制調和国際会議)における医薬品中の不純物の安全性基準の策定に参画
- ・ OECD化学物質共同評価プログラム関連研究業務
 - AOP(有害性発現経路)開発支援

第二室 安全性情報の調査研究

・ 国際情報基盤の構築(国際文書作成と翻訳公開)

- IPCSの国際化学物質安全性カード(ICSC)原案作成と翻訳公開
- OECDテストガイドライン翻訳公開

・ 毒物劇物の指定に係る毒性評価

- 化学物質の急性毒性による健康被害の発生防止のため、毒物及び劇物取締法による「毒物」「劇物」指定のための情報収集整理

・ 緊急危害対応のための情報基盤の構築

- 毒物劇物取締法データベースの公開
- AEGL(急性曝露ガイドライン濃度)翻訳公開

・ 水道における水質リスク評価と管理に関する研究

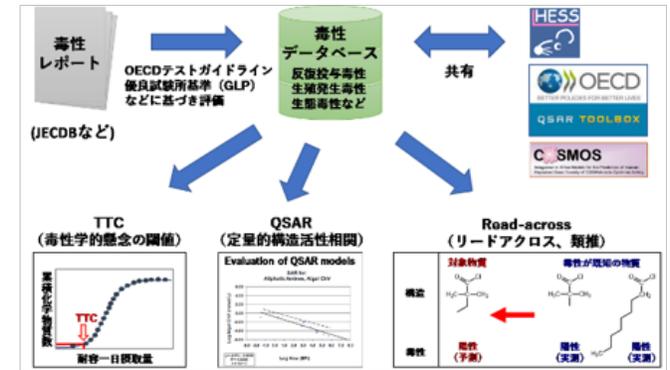
・ 食品用器具・容器包装のポジティブリスト(PL)制度に関わる業務

- 食品用器具・容器包装のPL制度の導入に伴う、リスト収載物質の毒性情報の収集、PLの整備、科学的根拠に基づいた安全性評価と合理的な規制の推進

第三室 In silico評価法の開発研究

・ In vivo毒性試験のデータベース化と in silico解析・評価への応用に関する研究

- In silico毒性評価手法の開発基盤となる信頼性の高い毒性データベースを構築し、国内外の諸機関と協力して毒性データベースの共有を推進
- 種々の in silico手法(TTC, QSAR, Read-across)について、既存のモデルの検証・改良および新規モデルの開発
- 統合的評価手法(IATA; Integrated Approaches to Testing and Assessment)による毒性予測の事例研究



・ AIを用いた化学物質の次世代型健康リスク予測手法に関する基盤の開発研究

- 化学物質安全性ビッグデータベースの構築と、人工知能(AI)を用いた医薬品・食品・生活化学物質のヒト安全性予測基盤技術の開発研究

既存化学物質のスクリーニング評価のために実施した毒性試験結果や国際統一化学物質情報データベース (IUCLID)形式にまとめた試験概要を、既存化学物質毒性データベース(JECDDB)で公開

In silico技術を活用した安全性評価法の開発

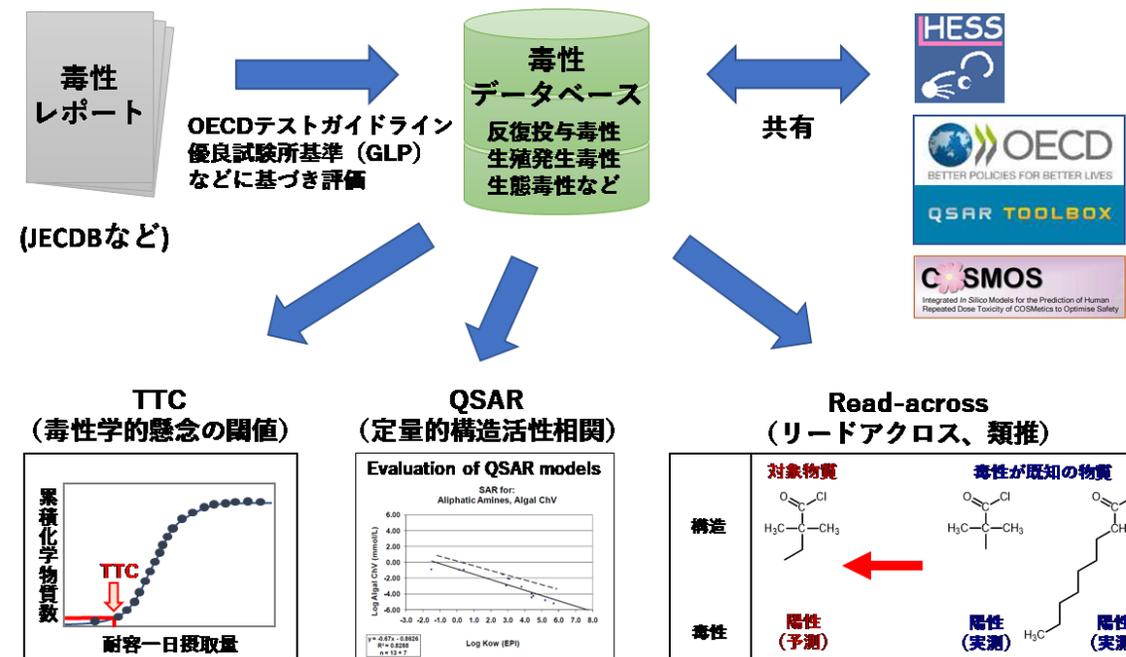
充分な毒性情報がない未評価化学物質の効率的な評価を目指して

化学物質のリスク評価のための in silico毒性予測評価手法の研究

- ・ 定量的構造活性相関(QSAR)
- ・ 毒性学的懸念の閾値(TTC)
- ・ リードアクロス、カテゴリーアプローチ

AIを用いた化学物質の次世代型健康リスク予測手法に関する基盤的開発研究

毒性予測の基盤となる信頼性の高いデータベースの構築



安全性予測評価部HPより

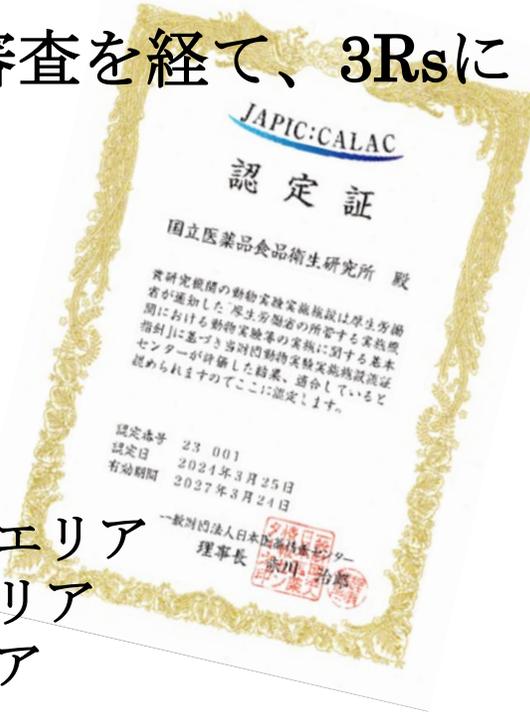
動物実験施設

JAPICの外部認証を受けた施設

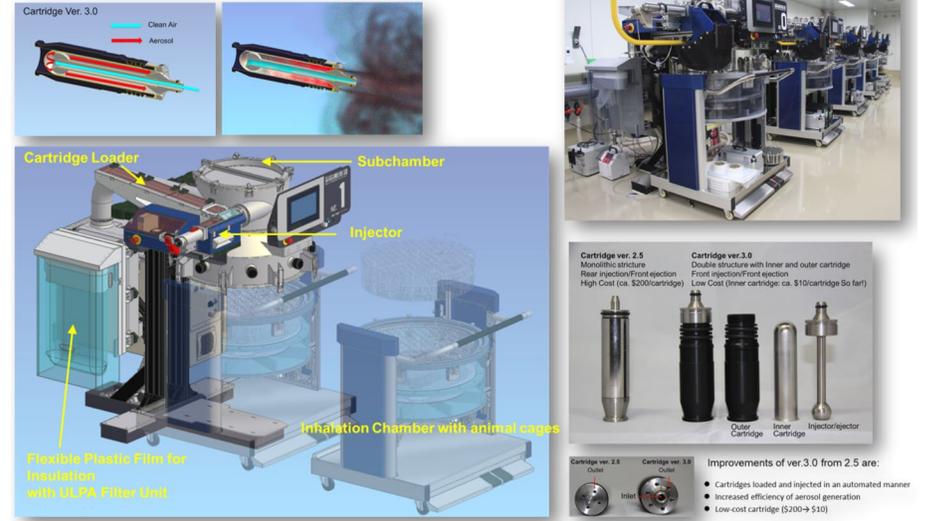
動物実験は、全て事前審査を経て、3Rsに準拠して施行

動物飼育室：

- ・ ラット・マウス飼育室
- ・ 中型動物飼育室
- ・ 検疫動物飼育室
- ・ ケミカルハザード対応エリア
- ・ バイオハザード対応エリア
- ・ 吸入曝露動物実験エリア



高分散のエアロゾル吸入ばく露装置 Taquannシステム



2年間の発がん性試験の実績あり

実験小動物用MRI



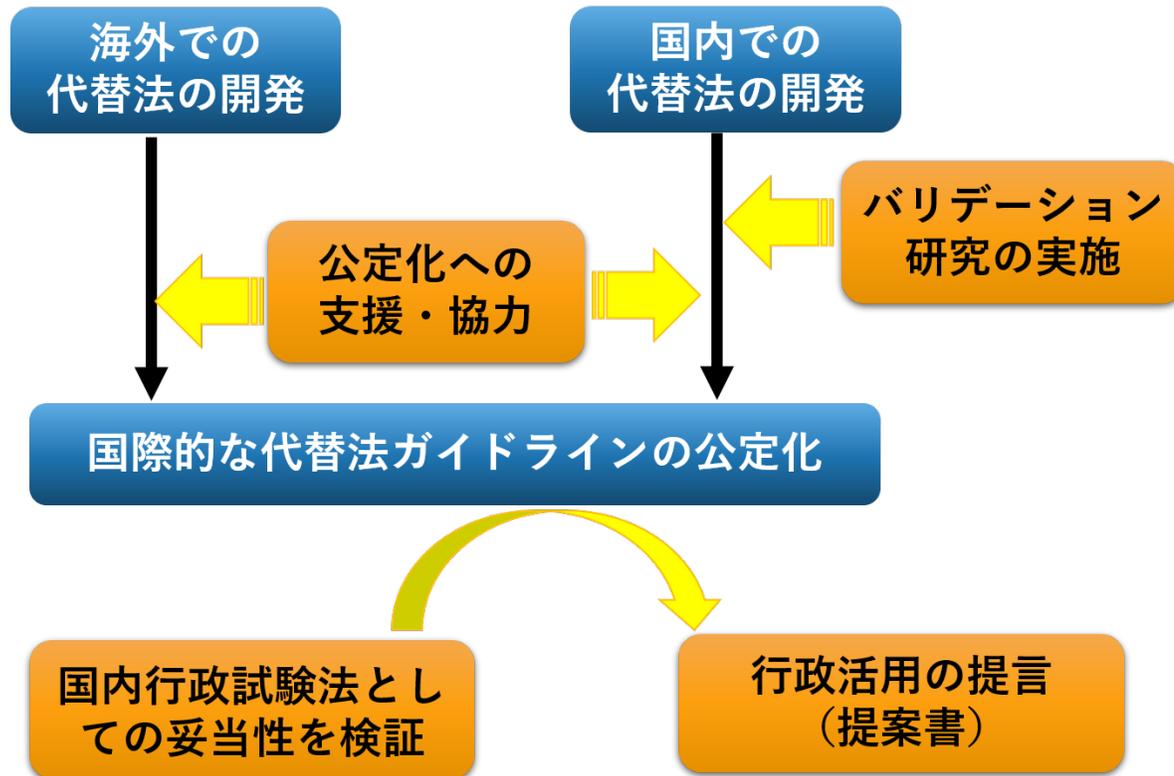
永久磁石 1.05テスラ
漏洩磁場が極めて小さい



JaCVAM 日本動物実験代替法評価センター

2005年に、動物試験代替法の行政利用の促進を目的として設立

JaCVAMの活動の流れ



JaCVAMが成立・改定に寄与した日本発のOECD TGとGD

1. Skin sensitization assay, LLNA : DA, TG 442A (2010)
2. Skin sensitization assay, LLNA : BrdU-ELISA , TG 442B (2010)
3. *In vivo* comet assay TG 489 (2014)
4. Skin irritation assay with LabCyte EPI-MODEL 24, TG 439 (2013)
5. Performance-based Test Guideline for stably transfected transactivation *in vitro* assays to detect estrogen receptor agonists and antagonist, Revised TG 455 (2015)
6. Bhas 42 cell transformation assay (2016) Guidance document
7. h-CLAT assay for skin sensitization testing, TG442E (2016)
8. IL-8 Luc assay for skin sensitization testing, TG442E (2017)
9. Eye irritation assay with LabCyte CORNEA-MODEL, TG492 (2018)
10. LabCyte EPI-MODEL for skin corrosivity testing, OECD TG431 (2019)
11. ROS assay for photosafety testing, TG495 (2019)
12. Short time exposure (STE) assay for eye irritation testing, TG491 (2020)
13. Stable transfected transcriptional activation (STTA) assay for androgen disruptor screening (AR-Ecoscreen), TG458 (2020)
14. Vitrigel-EIT for eye irritation testing, TG494 (2021)
15. ADRA for skin sensitisation testing, TG442C (2021)
16. ADRA for skin sensitisation testing, TG442C改定 (2022)
17. IL-8 Luc assay for skin sensitization testing, TG442E改定 (2023.7.4)
18. IL-2 Luc assay for immunotoxicity testing, TG444A (2023.7.4)

20

厚生労働省に受入れを提案した試験法 (直近5年間)

試験名	提案日
皮膚感作性試験代替法 Interleukin-8 Reporter Gene Assay (IL-8 Luc assay)	2020年12月
Bhas 42細胞形質転換試験法 (Bhas 42 CTA)	2020年12月
エストロゲン受容体 (ER) 結合親和性化学物質の検出のための、ヒト組み換えエストロゲン受容体 (hrER) <i>in vitro</i> 試験法に関する性能準拠試験法ガイドライン (TG493)	2020年12月
皮膚腐食性試験代替法 LabCyte EPI-MODEL24 SCT	2021年12月
眼刺激性試験代替法 Vitrigel-EIT法	2022年6月
眼刺激性試験代替法 SkinEthic©HCE TTT法	2024年2月
皮膚感作性試験代替法 ADRA : アミノ酸誘導体結合性試験	2024年2月

ご清聴ありがとうございました

多様化する一方の、国民生活に直接関与する業務関連物質の安全性評価にかかる調査・試験・研究業務について、健康医療戦略等の政策指針や、国際協調をも考慮しつつこれまでの国立研究機関ならではの継続性の必要な地道な調査研究を維持しつつ、科学技術の進展に伴う新たな研究活動にも取り組むことで、研究所の掲げるレギュラトリーサイエンスの展開をめざします。

