

平成28年度医療研究開発推進事業費補助金 (医薬品等規制調和・評価研究事業) 成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 医薬品等規制調和・評価研究事業
(英語) Research on Regulatory Science of Pharmaceuticals and Medical Devices

研究開発課題名： (日本語) 医薬品等の安全性評価に関する in vitro 試験(代替法)の開発、国際標準化及び普及促進に関する研究
(英語) Research into the development, international standardization, and promotion of in vitro alternative test methods for evaluating the safety of drugs and quasi-drugs

補助事業担当者
所属 役職 氏名： (日本語) 国立医薬品食品衛生研究所 安全生物試験研究センター
安全性予測評価部 第二室 室長 小島肇
(英語) Hajime Kojima, section chief, Second Section of the Safety Assessment Division, Biological Safety Research Center, National Institute of Health Sciences

実施期間： 平成28年4月1日 ～ 平成29年3月31日

- 分担研究
分担課題名： (日本語) 動物実験代替法に関する国際情勢調査に基づいたガイダンス開発と普及に関する研究
(英 語) Research into the development and promotion of guidance for in vitro alternative test methods based on a survey of international trends
- 補助事業分担者
所属 役職 氏名： (日本語) 日本化粧品工業連合会 動物実験代替専門部会 部会長 杉山真理子
(英 語) Mariko Sugiyama, chairperson, Subcommittee on Alternatives to Animal Testing, Japan Cosmetic Industry Association
- 分担研究
分担課題名： (日本語) 医薬品の発生毒性試験を目的に開発される高質で均質なゼブラフィッシュ受精卵の作出法の多施設検証研究
(英 語) Validation study on a selection method of zebrafish embryo for developmental toxicity of medicine
- 補助事業分担者
所属 役職 氏名： (日本語) アステラス製薬株式会社 研究本部 安全性研究所 主管研究員 藤原道夫
(英 語) Michio Fujiwara, Research fellow, Drug Safety Research Labs, Drug Discovery Research, Astellas Pharma Inc.
- 分担研究
分担課題名： (日本語) 医薬品の発生毒性試験を目的に開発される in vitro 試験の多施設検証研究
(英 語) Validation study on an in vitro developmental toxicity for medicine
- 補助事業分担者
所属 役職 氏名： (日本語) 住友化学株式会社 生物環境科学研究所 上席研究員 斎藤 幸一
(英 語) Koichi Saito, Senior Research Fellow, Environmental Health Science Laboratory, Sumitomo Chemical Co. Ltd.

II. 成果の概要 (総括研究報告)

小島肇補助事業代表者は、眼刺激性試験代替法 BCOP(牛摘出角膜混濁および透過性試験)により、弱い刺激性を評価する方法を開発するため、(株)化合物安全性研究所との共同研究により、病理学的な検査で偽陰性が生じるケースを PASS 染色で補うことを見出だした。

試験法の評価において、皮膚感作性試験代替法 ADRA(Amino acid Derivative Reactivity Assay)について、開発者の富士フイルム(株)、東京理科大等の協力を得ながらバリデーションを実施し、施設内再現性を確認できた。農業・食品産業技術総合研究機構および関東化学(株)の開発した眼刺激性試験代替法 Vitrigel-EIT 法、(株)J-TEC が開発した眼刺激性試験代替法ヒト角膜モデル LabCyte CORNEAL-MODEL および住友化学(株)が開発した発生毒性試験代替法 Hand1-Luc EST のバリデーション結果を国際的な第三者専門家が評価している。

山本直樹研究開発分担者(分担者)(藤田保健衛生大学)は、生殖発生毒性スクリーニング法(Hand1-Luc EST)の改変法の確立を目的に、CRISPR-Cas9 システムを用いた HAND1-EmGFP-G418 細胞を作成するための guide-RNA と knock-in 用 Donor DNA を作製した。

荻原琢男分担者(高崎健康福祉大)は、ヒト初代培養凍結肝細胞の3次元培養法を用いた薬物代謝酵素誘導系の構築を検討し、2次元(平面)培養法と比較した。酵素誘導剤にて肝細胞を曝露したところ、3次元培養法では3種の主要酵素の mRNA 量および代謝活性は経時的に増加したが、2次元培養法では総じて誘導活性は弱く、酵素によっては mRNA 量の減少および誘導活性の減少もしくは消失が観察された。この検討から、ヒト初代培養凍結肝細胞の3次元培養法の有用性が示唆された。

板垣宏分担者(横浜国立大学)は、in vitro 皮膚感作性試験 h-CLAT では偽陰性と評価される4種類の皮膚感作性物質(Phthalic Anhydride、Butyl Glycidyl Ether、Benzyl Cinnamate、 α -Tocopherol)に対して、流動パラフィンを用いる高濃度短時間曝露を検討した。その結果、本試験条件において、酸無水物やエポキシド化合物などの3化合物が陽性に評価されることを見出した。しかし、脂溶性ビタミンの α -Tocopherolは陰性のままであった。

世界的標準ゼブラフィッシュの一つである AB strain の自然歴には、無視できない自然死や自然奇形が存在し、医薬品による毒性死や催奇性と区別できないため偽陽性の確率が高い。そこで田中利男分担研究者(三重大学)は、5-6dpf までの生存率や形態正常率(自然歴 51.6%)を最大にして、1ペアから96匹以上(96 ウェルプレートイメージング)になるためには186受精卵数以上になる親選択プロトコルを作成した。さらに高品質受精卵安定供給のため、低品質受精卵を受精後3-5時間撮影により確実に正確に検定し発生毒性試験から除外するプロトコルを確立した。

藤原道夫分担者(アステラス製薬)らは、田中利男分担者が開発した高品質受精卵供給プロトコルの多施設検証に着手した。国内の医薬品生殖発生毒性試験施設に対して多施設研究への参加を打診し、製薬企業3施設と受託研究施設2施設の参加を得た。田中プロトコル素案に基づいた講習会が参加施設に対して行われ、参加施設からプロトコルの導入が容易となるための改善案がフィードバックされた。最終化されたプロトコルが各施設に配布され、他施設研究が開始された。

斎藤幸一分担者(住友化学)らは、発生毒性 in vitro 試験法 Hand1-Luc EST の検出感度、特に齧歯類と非齧歯類の胎児毒性に対する予測性の違いの有無について調査した。当該試験で評価済み化合物の多くは齧歯類単独または、両種で発生毒性陽性であり、ウサギのみ陽性となる物質はサリドマイドだけであり、判断が難しかった。また、オリジナルの EST と Hand1-Luc EST の文献調査を行い、細胞毒性値と分化阻害値が相関していることを示し、試験法の同等性を示した。

杉山真理子分担者(日本化粧品工業連合会)らは、本邦における動物実験代替法の開発と評価を推進するためには、関連する国際情勢を調査した。国内外の代替法に関する情勢は急速に変化しており、本年も関連情報を継続的に収集分析した。中田土起丈・矢上晶子分担者らは、国内のガイダンス検討会において複数の代替法を組み合わせる感作性を評価するガイダンス案について議論を重ね、最終案の段階に至った。また、眼刺激性についても日本から提案した短時間曝露試験(Short time Exposure Test; STE)法についても議論を行い、最終案を提出した。

Lead researcher Dr. Hajime Kojima was responsible for a joint research project, undertaken with the Safety Research Institute for Chemical Compounds Co., Ltd., that led to the discovery of a method for supplementing pathological testing with periodic acid-Schiff staining to reduce the incidence of false negative results in order to develop a method for evaluating mild irritation using the Bovine Cornea Opacity/Permeability (BCOP) test, which is an alternative ocular irritation assay.

Dr. Kojima was also responsible for coordinating evaluation studies of new test methods, including a validation study performed with the cooperation of the developer, Fujifilm Corporation, as well as Tokyo University of Science and others to confirm the within-laboratory reproducibility of the Amino acid Derivative Reactivity Assay (ADRA), an alternative skin irritation assay. He has also coordinated peer review studies undertaken by international panels of experts for the Vitrigel Eye

Irritation Test, an alternative ocular irritation assay developed by the National Agriculture and Food Research Organization as well as Kanto Chemical Co., Inc.; the LabCyte Corneal-Model test using reconstructed human corneal tissue, an alternative ocular irritation assay developed by Japan Tissue Engineering Co., Ltd; and the Hand1-Luc embryonic stem cell test, an alternative embryotoxicity assay developed by Sumitomo Chemical Co., Ltd.

Affiliated researcher Dr. Naoki Yamamoto of Fujita Health University was responsible for the fabrication of guide-RNA and knock-in donor DNA for creation of Hand1-EmGFP-G418 cells utilizing the CRISPR/Cas9 system as part of efforts to establish the Hand1-Luc EST method for screening embryotoxicity.

Affiliated researcher Dr. Takuo Ogihara of Takasaki University of Health and Welfare was responsible for a study of the mechanism of induction of drug-metabolizing enzymes using cryopreserved primary human hepatocytes produced in 3D cultures and their comparison with 2D cultures. It was observed that, when hepatocytes produced in 3D cultures are exposed to enzyme-inducing agents, there is an increase over time in the mRNA levels of three major enzymes as well as in the accompanying metabolic activity. In contrast to this, hepatocytes produced in 2D cultures exhibit only weak induction activity overall, with some enzymes exhibiting either a decrease in or a total loss of mRNA levels and accompanying metabolic activity. The results of this study suggest the usefulness of cryopreserved primary human hepatocytes produced in 3D cultures.

Affiliated researcher Dr. Hiroshi Itagaki of Yokohama National University was responsible for a study of a method that uses liquid paraffin for high-concentration, short-time exposure of four different skin sensitizers—namely, phthalic anhydride, butyl glycidyl ether, benzyl cinnamate, and α -tocopherol—that consistently yield false negative results in the human cell line activation in vitro skin sensitization test (h-CLAT). This discovery enabled anhydrides, epoxides, and other compounds to be assayed correctly as skin sensitizers in h-CLAT, although the correct assessment of the fat-soluble vitamin α -tocopherol remains problematic.

The AB-strain of zebrafish is a model organism for scientific research, the use of which can result in a high false-positive rate, because of naturally occurring death and deformity that are difficult to distinguish from instances of drug-induced death and malformation. Affiliated researcher Dr. Toshio Tanaka of Mie University has created a protocol for parent selection that maximizes rates for both survival and normal morphological development at 5–6 dpf (51.6% in the absence of intervention) by using a minimum of 186 fertilized eggs to produce 96 viable embryo (96-well plate imaging) from a single pair of parents. To further ensure a stable supply of high-quality fertilized eggs, a protocol was established to exclude parents with low-quality fertilized eggs from embryotoxicity testing through the use of accurate and reliable inspection per digital imaging performed three to five hours postfertilization.

Affiliated researcher Dr. Michio Fujiwara of Astellas Pharma Inc. has coordinated the implementation of validation studies for the zebrafish–egg-fertilization protocols developed by Dr. Tanaka at multiple participating laboratories. The participating laboratories, which comprise three pharmaceutical companies and two research institutes, were selected from a number of candidate facilities in Japan that are capable of performing drug-related reproductive toxicity screening. A training program based on the Tanaka protocol was undertaken for the participating laboratories, after which feedback from the participating laboratories was incorporated into a revised protocol in order to facilitate introduction of the protocol. The finalized protocol was distributed to each laboratory and research was initiated at other laboratories.

Affiliated researcher Dr. Koichi Saito of Sumitomo Chemical Co., Ltd et al investigated the sensitivity of the Hand1-Luc EST embryotoxicity assay as well as differences in predictive capacity of embryotoxicity in rodents and non-rodents. Many of the chemicals evaluated with this assay tested positive for embryotoxicity either for rodents alone or for both rodents and non-rodents, but thalidomide was found to be particularly difficult to assay, testing positive only in rabbits. A review

of the literature on the original EST and the Hand1-Luc EST revealed a correlation between cytotoxicity and disruption of differentiation, indicating the functional equivalency of these two test methods.

Affiliated researcher Dr. Mariko Sugiyama of the Japan Cosmetic Industry Association et al investigated international trends in the development and evaluation of alternatives to animal testing as part of efforts to promote these activities in Japan. With these activities continuing to gain momentum both in Japan and around the world, acquisition and analysis of related information was performed continuously over the past year.

Affiliated researchers Drs. Tokio Nakata and Akiko Yagami coordinated a study meeting which ultimately created a final draft of proposed guidelines for evaluating sensitization using combinations of multiple alternative test methods. Also, a final proposal was submitted following discussion of the Short-Time Exposure test for eye irritation, which was developed by Japanese researchers.

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 6 件、国際誌 5 件）

1. Yamamoto N, Kato Y, Sato A, Hiramatsu N, Yamashita H, Ohkuma M, Miyachi E, Horiguchi M, Hirano K, Kojima H. Establishment of a new immortalized human corneal epithelial cell line (iHCE-NY1) for use in evaluating eye irritancy by in vitro test methods. *In Vitro Cell.Dev.Biol.-Animal*. 2016, 52(7):742-8.
2. 小島肇. 医薬品, 医薬部外品, 化粧品安全性評価に用いることができる代替法, 薬剤学. 2016, 76(4), 243-246.
3. 小島肇. 皮膚毒性評価に関する最近の話題, 評価方法, 第 17 回日本毒性学会生涯教育講習会テキスト. 2016, 89-108.
4. Uchino T, Kuroda Y, Ishida S, Yamashita K, Miyazaki H, Oshikata A, Shimizu K, Kojima H, Takezawa T, Akiyama T, Ikarashi Y. Increase of $\beta 2$ -integrin on adhesion of THP-1 cells to collagen vitrigel membrane. *Biosci Biotechnol Biochem*. 2016 Jul 4, 1-6.
5. Marx U, Andersson TB, Bahinski A, Beilmann M, Beken S, Cassee FR, Cirit M, Daneshian M, Fitzpatrick S, Frey O, Gaertner C, Giese C, Griffith L, Hartung T, Heringa MB, Hoeng J, de Jong WH, Kojima H, Kuehnl J, Leist M, Luch A, Maschmeyer I, Sakharov D, Sips AJ, Steger-Hartmann T, Tagle DA, Tonevitsky A, Tralau T, Tsyb S, van de Stolpe A, Vandebriel R, Vulto P, Wang J, Wiest J, Rodenburg M, Roth A. Biology-inspired microphysiological system approaches to solve the prediction dilemma of substance testing. *ALTEX*. 2016, 33(3), 272-321.
6. Barroso J, Ahn IY, Caldeira C, Carmichael PL, Casey W, Coecke S, Curren R, Desprez B, Eskes C, Griesinger C, Guo J, Hill E, Roi AJ, Kojima H, Li J, Lim CH, Moura W, Nishikawa A, Park H, Peng S, Presgrave O, Singer T, Sohn SJ, Westmoreland C, Whelan M, Yang X, Yang Y, Zuang V. Validation of Alternative Methods for Toxicity Testing, Chapter 14: International Harmonization and Cooperation in the Validation of Alternative Methods. Springer. 2016, *Advances in Experimental Medicine and Biology* 856, 343-386.

7. 小島肇. 医薬品に係わる新添加物の安全性評価. 月刊ファームステージ. 16(6), 2016, 1.
8. 小島肇. 有用性化粧品の処方とその活用, 第 14 章総合評価の方法. シーエムシー出版. 2016, 147-151.
9. 小島肇, 西川秋佳. 日本動物実験代替法評価センター(JaCVAM) 平成 27 年度報告書. AATEX-JaCVAM. 2016, 5(1), 45-56.
10. 小島肇. 皮膚細胞を用いた最新の in vitro 安全性評価研究. コスメティックステージ 2016-12, 2016, 1-4.
11. Kojima H. Cosmetic Science and Technology: Theoretical Principles and Applications, Chapter 51: Safety Assessment of Cosmetic Ingredients. Elsevier. 2017, 793-803.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. View and suggestion about how to promote progress and cooperation in Asia, 口頭, Kojima H, 2016 上海化粧品科学フォーラム, 2016/4/27-29, 国外.
2. 国際機関で承認されている in vitro 試験法, 口頭, 小島肇, 日本組織培養学会 第 89 回大会, 2016/5/25-26, 国内.
3. ヒト不死化角膜上皮細胞を用いた三次元角膜モデルの有用性, 口頭, 山本直樹, 平松範子, 加藤義直, 佐藤淳, 中田悟, 松井優子, 真野陽介, 原和宏, 増藺夕紀子, 中村政志, 小島肇, 日本組織培養学会 第 89 回大会, 2016/5/25-26, 国内.
4. Japanese activities for alternative to animal testing around the world, 口頭, Kojima H, 6th Workshop & Training of Alternative Methods, 2016/6/19-22, 国外.
5. 医薬品に係わる新添加剤の安全性評価における諸課題, 口頭, 小島肇, 第 43 回日本毒性学会学術年会, 2016/6/29-7/1, 国内.
6. 経済産業省プロジェクト「石油精製物質等の新たな化学物質規制に必要な国際先導的有害性試験法の開発: Arch-Tox」の計画概要, 口頭, 小島肇, 第 43 回日本毒性学会学術年会, 2016/6/29-7/1, 国内.
7. 牛摘出角膜を用いた混濁度及び透過性試験(BCOP 法: 眼刺激性代替法試験)における角膜病理学的検査により弱刺激性物質の評価, ポスター, 伊藤浩太, 榊原隆史, 古川正敏, 奥村宗平, 越田美, 川村公太郎, 松浦正男, 小島肇, 第 43 回日本毒性学会学術年会, 2016/6/29-7/1, 国内.
8. Strategy on the OECD TG in Japan, 口頭, Kojima H, 13th Annual meeting of Korean Society for Alternatives to Animal Experiments, 2016/8/19, 国外.
9. The current status of non-animal test methods and prospects for Asian cooperation, , 口頭, Kojima H, 17th Annual Congress of European Society for Alternative to Animal Testing, 2016/8/24-27, 国外.
10. AOP の考え方, OECD による AOP プロジェクトの目的, 経緯と最終的なゴール, 口頭, 小島肇, 第 23 回日本免疫毒性学会学術年会, 2016/9/6-7, 国外.
11. International validation study on Hand1-Luc Embryonic stem cell test (Hand1-Luc EST): A

- reporter gene assay using engineered mouse ES cells evaluate embryotoxicity in vitro, 口頭, Kojima H, 5th Annual meeting of American Society for Cellular and Computational Toxicology, 2016/9/29-30, 国外.
12. 牛摘出角膜を用いた混濁度及び透過性試験法(BCOP 法: 眼刺激性代替法試験)における角膜の病理組織学的検査による弱刺激性物質の評価, 口頭, 伊藤浩太, 榊原隆史, 古川正敏, 奥村宗平, 越田美, 河村公太郎, 松浦正男, 小島肇, 日本動物実験代替法学会第 29 回大会, 2016/11/15-18, 国内.
 13. JaCVAM における 3Rs 原則と動物実験代替法, 口頭, 小島肇, 日本動物実験代替法学会第 29 回大会, 2016/11/15-18, 国内.
 14. 培養角膜上皮モデル LabCyte CORNEA-MODEL24 眼刺激性試験の多施設バリデーション研究, ポスター, 萩原沙織, 篠田伸介, 仲原聡, 小島肇, 大森崇, 遠藤麻衣, 佐竹真悠子, 池田英史, 西浦英樹, 笠原利彦, 山本祐介, 加藤雅一, 菅原桂, 日本動物実験代替法学会第 29 回大会, 2016/11/15-18, 国内.
 15. 不死化ヒト角膜細胞株 (iHCE-NY) を用いて作製した三次元角膜再構築モデルの眼刺激性試験代替法 ~再構築ヒト角膜様上皮 (RhCE) 試験法用性能標準の 30 物質 (TG492PS) に対する回復性を取り入れた予測性~, ポスター, 加藤義直, 山本直樹, 佐藤淳, 中田悟, 小島肇, 日本動物実験代替法学会第 29 回大会, 2016/11/15-18, 国内.
 16. Cys および Lys 誘導体を用いた皮膚感作性試験代替法 (ADRA 法) のバリデーション研究のための技術移転結果報告, ポスター, 藤田正晴, 笠原利彦, 山本裕介, 渡辺真一, 菅原経継, 若林晃次, 田原宥, 堀江宣行, 藤本恵一, 高橋寛明, 黒川嘉彦, 小野敦, 小島肇, 日本動物実験代替法学会第 29 回大会, 2016/11/15-18, 国内.
 17. タンパク質のアレルギー性を評価する in vitro 試験法の開発, ポスター, 松成夏美, 九十九英恵, 謝丹, 岡朱音, 小島肇, 板垣宏, 日本動物実験代替法学会第 29 回大会, 2016/11/15-18, 国内.
 18. 改良型コラーゲンビトリゲル膜チャンバーでの THP-1 細胞の細胞接着性及びサイトカイン産生量, ポスター, 内野正, 宮崎洋, 山下邦彦, 竹澤俊明, 小島肇, 秋山卓美, 五十嵐良明, 日本動物実験代替法学会第 29 回大会, 2016/11/15-18, 国内.
 19. Reducing false negative results in an in vitro skin sensitization test: The human cell line activation test, ポスター, VO P.T.H, Narita K, Nakagawa F, Kojima H, Itagaki H, 日本動物実験代替法学会第 29 回大会, 2016/11/15-18, 国内.
 20. In vitro 発生毒性試験 -Hand1-Luc Embryonic Stem Cell Test (Hand1-Luc EST)- In vitro method predicting embryotoxicity -Hand1-Luc Embryonic Stem Cell Test (Hand1-Luc EST)-, 口頭, 鈴木紀之, Le Coz Florian, 永堀博久, 斎藤幸一, 第 29 回 日本動物実験代替法学会, 2016/11/15-18, 国内.
 21. 皮膚刺激性試験代替法の動向, 口頭, 杉山真理子, 第 29 回日本動物実験代替法学会 大会シンポジウム, 2016/11/15-18, 国内.
 22. Guidance on use of alternative methods for testing in the safety assessment of cosmetics and quasi-drug, ポスター, Kojima H, Asian Congress on Alternatives and Animal Use in

the Life Sciences (Asian Congress) 2016, 2016/11/15-18, 国内.

23. 日本における動物実験代替法研究の胎動, 口頭, 小島肇, シンポジウム「日本における動物実験代替法の新たなる技術展開」, 第90回日本薬理学会年会, 2017/3/15-17, 国内.
24. Special stain for detection of corneal histopathological changes in BCOP (Bovine Corneal Opacity and Permeability) assay, ポスター, Furukawa M, Sakakibara T, Itoh Kouta, Kawamura K, Matsuura M, Kojima H, 56th Annual meeting of Society of Toxicology, 2017/3/12-14, 国外.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. 皮膚毒性評価に関する最近の話題, 評価方法, 口頭, 小島肇, 第17回日本毒性学会生涯教育講習会テキスト, 2016/7/2, 国内.
2. 代替法試験の基礎から最新知見まで, 口頭, 小島肇, マツモト交商 安全性試験セミナー 2016/7/8, 国内.
3. 動物実験代替法の国内外の動向, 口頭, 小島肇, 皮膚基礎研究クラスターフォーラム第11回教育セミナー, 2016/7/14, 国内.
4. 化粧品と医薬部外品の安全評価における皮膚刺激性試験代替法の課題への取り組み, 口頭, 杉山真理子, 皮膚基礎研究クラスターフォーラム第11回教育セミナー, 2016/7/14, 国内.
5. 医薬品食品領域での動物愛護管理法の現在と未来, 口頭, 小島肇, NPO 法人動物実験関係者連絡協議会 第5回シンポジウム 「動物愛護管理法」の過去・現在・未来, 2016/12/10, 国内.
6. セミナー「動物実験代替法の現状と展望」, 口頭, 小島肇, バイオインダストリー協会, 2017/1/13, 国内.

(4) 特許出願

該当無し

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 医薬品等規制調和・評価研究事業
(英語) Research on Regulatory Science of Pharmaceuticals and Medical Devices

研究開発課題名： (日本語) 医薬品等の安全性評価に関する *in vitro* 試験 (代替法) の開発、国際標準化及び普及促進に関する研究
(英語) Research into the development, international standardization, and promotion of *in vitro* alternative test methods for evaluating the safety of drugs and quasi-drugs

研究開発担当者 所属 役職 氏名： (日本語) 藤田保健衛生大学 共同利用研究施設 分子生物学 准教授 山本直樹
(英語) Naoki Yamamoto, Associate Professor, Laboratory of Molecularbiology, Fujita Health University Institute of Joint Research

実施期間： 平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日

研究開発分担者 所属 役職 氏名： (日本語) 藤田保健衛生大学 坂文種報徳会病院 総合アレルギー科 教授
矢上晶子
(英語) Akiko Yagami, Professor, Department of Allergology, Fujita Health University Second Educational Hospital

分担研究 開発課題名： (日本語) 皮膚毒性評価ガイダンス開発に関する研究
(英語) Research into the development of guidance for *in vitro* skin sensitisation test methods

II. 成果の概要（総括研究報告）

研究開発代表者：国立医薬品食品衛生研究所 安全生物試験研究センター 安全性予測評価部
小島肇 総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 1 件）

1. Yamamoto N, Kato Y, Sato A, Hiramatsu N, Yamashita H, Ohkuma M, Miyachi E, Horiguchi M, Hirano K, Kojima H. Establishment of a new immortalized human corneal epithelial cell line (iHCE-NY1) for use in evaluating eye irritancy by in vitro test methods. *In Vitro Cell Dev Biol Anim* 52 (7), 742-748, 2016.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 新たな手法で作出した不死化細胞による医薬品・医薬部外品の評価，シンポジウム，山本直樹，第 36 回日本眼薬理学会，2016/9/10-11，国内.
2. ヒト不死化角膜上皮細胞を用いた三次元角膜モデルの有用性，口頭，山本直樹，平松範子，山下宏美，加藤義直，佐藤 淳，中田 悟，松井優子，真野陽介，原 和宏，増蘭夕紀子，中村政志，小島 肇，日本組織培養学会第 89 回大会，2016/5/25-26，国内.
3. パッチテストパネル(S)の金チオ硫酸ナトリウムの陽性反応の検討，口頭，鈴木加余子，矢上晶子，中田土起丈，松永佳世子他，第 46 回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会 2016/11/5-6，国内.
4. 不死化ヒト角膜細胞株 (iHCE-NY) を用いて作製した三次元角膜再構築モデルの眼刺激性試験代替法，ポスター，加藤義直，山本直樹，佐藤 淳，中田 悟，小島 肇，第 29 回日本動物実験代替法学会，2016/11/15-18，国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

1. わかりやすい病気の基礎知識，口頭，山本直樹，平成 28 年度知立市生涯学習講座「知を立てる講座」，2016/7/3，国内

(4) 特許出願

該当なし

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名： (日本語) 医薬品等規制調和・評価研究事業
(英語) Research on Regulatory Science of Pharmaceuticals and Medical Devices
- 研究開発課題名： (日本語) 医薬品等の安全性評価に関する *in vitro* 試験 (代替法) の開発、国際標準化及び普及促進に関する研究
(英語) Research into the development, international standardization, and promotion of *in vitro* alternative test methods for evaluating the safety of drugs and quasi-drugs
- 研究開発担当者
所属 役職 氏名： (日本語) 学校法人高崎健康福祉大学大学院薬学研究科臨床薬物動態学分野
教授 荻原琢男
(英語) Takuo Ogihara, Professor, Laboratory of Clinical Pharmacokinetics,
Graduate School of Pharmaceutical Sciences, Takasaki University
of Health and Welfare
- 実施期間： 平成28年4月1日 ～ 平成29年3月31日

II. 成果の概要（総括研究報告）

研究開発代表者：国立医薬品食品衛生研究所 安全生物試験研究センター 安全性予測評価部
小島肇 総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 1 件）

1. Arakawa H, Kamioka H, Jomura T, Koyama S, Idota Y, Yano K, Kojima H, Ogihara T. Preliminary Evaluation of Three-Dimensional Primary Human Hepatocyte Culture System for Assay of Drug-Metabolizing Enzyme-Inducing Potential. *Biol. Pharm. Bull.* *Accepted*.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. Micro-scaffold を用いた肝オルガノイド培養による新規代謝スクリーニング系の開発, ポスター, 伊藤学, 増田範生, 新井一也, 荒川大, 荻原琢男, 第 23 回 HAB 研究機構学術年会, 2016/5/26-28, 国内.
2. 三次元培養肝細胞による長期曝露を可能とした代謝酵素誘導評価系の有用性, , ポスター, 荻原琢男, 上岡宏紀, 城村友子, 荒川大 :第 23 回 HAB 研究機構学術年会, つくば, 2016/5/26-28, 国内.
3. Utility of Three Dimensional Culture of Human Hepatocytes for Evaluation of Drug Metabolism Profile, Toxicity and Enzyme Induction, 口頭, H. Arakawa, The 1st Workshop for Japan-Korea Young Scientists on Pharmaceuticals, Symposium 1, Pharmacokinetics, 2016/6/24-25, 国内.
4. 三次元培養肝細胞による代謝酵素誘導評価系の構築, , ポスター, 城村友子, 荒川大, 上岡宏紀, 荻原琢男, 第 43 回日本毒性学会学術年会, 2016/6/29-7/1, 国内.
5. Development of toxic and metabolic screening assay with hepatic organoid culturing on micro-scaffold NanoCulture Plate(NCP), ポスター, M Mamunur Rahman, M. Itoh, K. Arai, N. Masuda, H. Arakawa, T. Ogihara, Organ-on-a-Chip World Congress 2016& 3D-Culture, 2016/6/7-8, 国外.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

該当なし

(4) 特許出願

該当なし

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名 : (日本語) 医薬品等規制調和・評価研究事業
(英語) Research on Regulatory Science of Pharmaceuticals and Medical Devices
- 研究開発課題名 : (日本語) 医薬品等の安全性評価に関する in vitro 試験 (代替法) の開発、国際標準化及び普及促進に関する研究
(英語) Research into the development, international standardization, and promotion of in vitro alternative test methods for evaluating the safety of drugs and quasi-drugs
- 研究開発担当者
所属 役職 氏名 : (日本語) 国立大学法人横浜国立大学 大学院工学研究院 機能の創生部門 物質とエネルギーの創生工学コース 教授 板垣 宏
(英語) Hiroshi Itagaki, Professor, Yokohama National University
Faculty of Engineering
- 実施期間 : 平成 28 年 4 月 1 日 ~ 平成 29 年 3 月 31 日

II. 成果の概要（総括研究報告）

研究開発代表者：国立医薬品食品衛生研究所 安全生物試験研究センター 安全性予測評価部
小島肇 総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 0 件）

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 皮膚感作性試験 h-CLAT の偽陰性改善に関する検討, ポスター, Vo Thihong Phuc, 成田和人, 中川史子, 小島肇, 板垣宏, 日本動物実験代替法学会第 29 回大会, 2016/11/15-18, 国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
該当無し

(4) 特許出願
該当無し

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名： (日本語) 医薬品等規制調和・評価研究事業
(英語) Research on Regulatory Science of Pharmaceuticals and Medical Devices
- 研究開発課題名： (日本語) 医薬品等の安全性評価に関する in vitro 試験(代替法)の開発、国際標準化及び普及促進に関する研究
(英語) Research into the development, international standardization, and promotion of in vitro alternative test methods for evaluating the safety of drugs and quasi-drugs
- 研究開発担当者 (日本語) 昭和大学医学部皮膚科学講座教授 中田 土起丈
所属 役職 氏名： (英語) Tokio Nakada, Professor, Department of Dermatology, Showa University
- 実施期間： 平成28年4月1日 ～ 平成29年3月31日

II. 成果の概要（総括研究報告）

研究開発代表者：国立医薬品食品衛生研究所 安全生物試験研究センター 安全性予測評価部
小島肇 総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 2 件、国際誌 1 件）

1. 片山恵子, 伊藤雄太, 大川裕子, 宇野裕和, 末木博彦, 中田土起丈, 掌蹠膿疱症における金属感作に関する検討, 昭和学術会誌, 2016, 76: 480-485.
2. Kitakawa M, Nakada T, Contact urticaria syndrome from tofu, Case Reports in Clinical Medicine, 2016, 5:203-206.
3. 佐藤由似, 保坂浩臣, 伊藤雄太, 濱田裕子, 奥村恵子, 宇野裕和, 中田土起丈, 皮革製のバッグによる接触皮膚炎, 皮膚臨床 2016, 58: 1930-1931.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. パッチテストパネル(S)の金チオ硫酸ナトリウムの陽性反応の検討, 口頭, 鈴木加余子, 矢上晶子, 中田土起丈, 松永佳世子他, 第 46 回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会 2016.11, 国内.
2. 有効成分, 添加物ともにパッチテスト要請を示したネオメドロール®EE 軟膏による接触皮膚炎, 口頭, 岩橋ゆりこ, 井藤 遥, 笠ゆりな, 濱田裕子, 殿岡永里加, 宇野裕和, 中田土起丈: 第 46 回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会 2016.11, 国内.
3. Guidance on use of alternative methods for testing in the safety assessment of cosmetics and quasi-drug, 口頭, Kojima H, Ikarashi Y, Nakada T, Yagami A, Sugibayashi K, Todo H, Hoshino Y, Iizuka N, Nakamura T, Sekizawa S, Shinoda K, Yagi H, Araki D, Sakaguchi H, Sasa H, Sugiyama H: Asian Congress 2016 on Alternatives and Animal Use in the Life Science, 2016.11, 国内

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

該当無し

(4) 特許出願

該当無し

平成28年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

事業名： (日本語) 医薬品等規制調和・評価研究事業
(英語) Research on Regulatory Science of Pharmaceuticals and Medical Devices

研究開発課題名： (日本語) 医薬品等の安全性評価に関する in vitro 試験（代替法）の開発、国際標準化及び普及促進に関する研究
(英語) Research into the development, international standardization, and promotion of in vitro alternative test methods for evaluating the safety of drugs and quasi-drugs

研究開発担当者 (日本語) 国立大学法人三重大学大学院医学系研究科システムズ薬理学
所属 役職 氏名： 教授 田中 利男
(英語) Toshio Tanaka, Professor, Department of Systems Pharmacology
Mie University Graduate School of Medicine

実施期間： 平成28年4月1日 ～ 平成29年3月31日

II. 成果の概要（総括研究報告）

研究開発代表者：国立医薬品食品衛生研究所 安全生物試験研究センター 安全性予測評価部
小島肇 総括研究報告を参照。

III. 成果の外部への発表

- (1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0件、国際誌 0件）
該当無し
- (2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表
該当無し
- (3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
該当無し
- (4) 特許出願
該当無し