

「化学物質リスク評価管理技術体系の構築（第2期）／
高機能簡易型有害性評価手法の開発」
事後評価報告書（案）概要

目 次

分科会委員名簿	1
プロジェクト概要	2
評価概要（案）	13
評点結果	19

独立行政法人新エネルギー・産業技術総合開発機構 研究評価委員会

「化学物質リスク評価管理技術体系の構築（第2期）／

高機能簡易型有害性評価手法の開発」（事後評価）

分科会委員名簿

（平成23年8月現在）

	氏名	所属、役職
分科会長	しらいし ひろあき 白石 寛明	国立環境研究所 環境リスク研究センター センター長
分科会長 代理	よしおか よしただ 吉岡 義正	大分大学 教育福祉科学部 教授
委員	いたがき ひろし 板垣 宏	横浜国立大学大学院 工学研究院 機能の創生 部門 教授
	かわもと としひろ 川本 俊弘	産業医科大学 医学部 衛生学講座 教授
	つだ しゅうじ 津田 修治	岩手県環境保健研究センター 環境研究指導専門員
	ふじはら みちお 藤原 道夫	アステラス製薬株式会社 研究本部 安全性研究所 開発毒性研究室 室長
	ほりい いくお 堀井 郁夫	ファイザー株式会社 グローバルコンサルタント

敬称略、五十音順

概 要

	作成日	平成23年8月17日	
プログラム名	環境安心イノベーションプログラム エネルギーイノベーションプログラム		
プロジェクト名	高機能簡易型有害性評価手法の 開発	プロジェクト番号	P06040
担当推進部/担当者	<担当推進部> 環境部 (平成22年7月～平成23年8月現在) 環境技術開発部 (平成20年7月～平成22年7月) バイオテクノロジー・医療技術開発部 (平成18年6月～平成20年7月)		
	<担当者> 西川 賢之 (平成22年4月～平成23年8月現在) 鈴木 保之 (平成20年4月～平成22年9月) 宮崎 秀 (平成20年4月～平成22年3月) 山崎 晶次郎 (平成19年4月～平成20年6月) 新木 清 (平成18年9月～平成19年3月) 小畑 政道 (平成18年6月～平成18年8月)		
0. 事業の概要	本事業は、化学物質のリスク評価管理の効率的な実施に貢献すべく、遺伝子導入、幹細胞分化誘導、遺伝子発現等の最先端の生命科学を培養細胞や動物を用いた短期試験に活用し、高機能で簡易な有害性評価手法を開発することを目的とし、以下の2項目について、研究開発を実施する。 A「培養細胞を用いた有害性評価手法の開発」 B-1 (基本計画変更前)「遺伝子発現解析技術を用いた発がん性予測手法の開発」 B-2 (基本計画変更後)「28日間反復投与試験結果と相関する遺伝子発現データセットの開発」		
I. 事業の位置付け・必要性について	化学物質のリスクを評価管理する技術体系は、化学物質のリスクに係る国民の理解増進の基礎、事業者が自ら化学物質管理を行うための基盤及び国が規制等の施策を講じる際の手段となることから、その整備は、国として実施することが必要である。 加えて、欧州では新たな化学物質規制 (REACH) が2007年6月に施行され、その制度の下では、発がん性、変異原性、生殖毒性を有する物質は、リスクがないことを証明しないと使用許可とならないところ、我が国においても同様の厳しい化学物質管理を求める声が高まっている。同じく欧州での化粧品に関する規制の動き (皮膚アレルギー等安全性試験の非動物実験化) 等、有害性評価に代替法を求める流れもある。 このような中で、従来の手法に比べ、簡易かつ高精度で化学物質の有害性を評価する手法を確立し、早急に安全性を証明していくことが急務となっている。		

	<p>化学物質のリスク評価においては、一般的に培養細胞等を用いた簡便な試験や動物を用いた長期間の毒性試験によって評価の基礎となる有害性情報を取得しているが、このような簡易試験で得られる毒性情報の種類は限られており、また、長期毒性試験についてはその費用や効率が課題として指摘されている。これらの欠点を補う手法として培養細胞を用いた手法が注目されており、近年急速に発展してきた生命科学の手法と組み合わせることによって、短期間で精度よく効率的に有害性情報を取得する簡便な試験系を実現できる可能性が開けてきている。また、毒性既知の物質を実験動物に投与して遺伝子発現の変動を解析・データベース化すると共に、毒性未知の物質を投与した場合の毒性を予測する手法が検討されている。</p> <p>本事業は、「環境安心イノベーションプログラム」及び「エネルギーイノベーションプログラム」の一環として実施するものである。また、「環境安心イノベーションプログラム」の中で、「2014年度を目途に有害性評価手法等を経済協力開発機構（OECD）にテストガイドラインとして提案することを検討し、国際標準化を推進する。」と規定されている。</p>
--	---

II. 研究開発マネジメントについて

事業の目標	<p>1. 最終目標（平成22年度末）</p> <p>A 「培養細胞を用いた有害性評価手法の開発」：遺伝子導入技術、幹細胞分化誘導技術、生物発光技術等を適用した培養細胞を用いて、試験期間1ヶ月程度で発がん性、催奇形性及び免疫毒性を予測評価できる試験方法を開発し、標準的な試験プロトコルを取りまとめる。</p> <p>B-1（基本計画変更前）「遺伝子発現解析技術を用いた発がん性予測手法の開発」：遺伝子発現解析技術を短期動物試験に適用し、試験期間1ヶ月程度で腎臓等における発がん性を精度90%以上で予測する手法を開発し、標準的な試験プロトコルを取りまとめる。</p> <p>B-2（基本計画変更後）「28日間反復投与試験結果と相関する遺伝子発現データセットの開発」：遺伝子発現解析技術を短期動物試験に適用し、28日間反復投与試験結果と相関する遺伝子情報データセットを完成させる。また、標準的な試験プロトコルを取りまとめる。</p>					
事業の計画内容	主な実施事項	H18fy	H19fy	H20fy	H21fy	H22fy
	A 培養細胞を用いた有害性評価手法の開発	←				→
	B-1 遺伝子発現解析技術を用いた発がん性予測手法の開発	←	→			
	B-2 28日間反復投与試験結果と相関する遺伝子発現データセットの開発				←	→
			B-2 に変更			

開発予算 (会計・勘定別に 事業費の実績額を 記載) (単位:百万円)	会計・勘定	H18fy	H19fy	H20fy	H21fy	H22fy
	一般会計	—	—	—	—	—
	特別会計 (需給)	479	388	360	315	249
	総予算額	479	388	360	315	249
開発体制	経産省担当原課	製造産業局化学物質管理課				
	プロジェクトリーダー	A 財団法人食品薬品安全センター秦野研究所代替試験法研究部長 田中憲穂 B-1 (基本計画変更前) 公立大学法人名古屋市立大学大学院教授 白井智之 B-2 (基本計画変更後) 公立大学法人福島県立医科大学教授 渡辺慎哉				
	委託先	A 財団法人食品薬品安全センター、住友化学株式会社、国立大学法人東北大学病院、独立行政法人産業技術総合研究所、東洋紡績株式会社 共同実施先：国立大学法人東京大学、国立大学法人鳥取大学 再委託先：学校法人鎌倉女子大学 B-1 (基本計画変更前) 財団法人化学物質評価研究機構 共同実施先：公立大学法人名古屋市立大学、学校法人埼玉医科大学 B-2 (基本計画変更後) 株式会社メディクローム 共同実施先：公立大学法人福島県立医科大学、大学共同利用機関法人情報・システム研究機構国立遺伝学研究所				

<p>情勢変化への対応</p>	<p>1. 平成19年8月31日までは、研究開発項目B-1「遺伝子発現解析技術を用いた発がん性予測手法の開発」を実施していたが、平成17年度に終了した先行プロジェクト「高精度・簡易有害性（ハザード）評価システム開発」（P01004）の事後評価（平成19年3月28日研究評価委員会）を踏まえて、これを中止し、研究開発項目B-2「28日間反復投与試験結果と相関する遺伝子発現データセットの開発」に変更し、公募により新たな委託先を平成19年12月28日に採択した（平成20年1月25日契約）。</p> <p>2-1. 研究開発項目Aの共同実施先変更 平成19年度下期から、より効率的な発光細胞製作のため、共同実施先として鳥取大学を追加し、押村研究室が有するHAC技術を導入した。また、平成20年度から、研究開発課題の集中化のため、共同実施先である東京大学生産技術研究所の研究開発課題「組織複合培養法による毒性評価法の開発」を中止した。</p> <p>2-2. 研究開発項目B-2の開発項目追加 平成22年度に重点的に、先に取得した遺伝子発現変動データの高度活用のため、肝臓等で毒性が発現する際に特徴的に影響を受ける遺伝子の解析に取り組んだ。</p> <p>3. 平成20年度には、研究開発項目Aに3件80百万円、研究開発項目B-2に42百万円、計122百万円の加速資金を投入した。 平成21年度には、研究開発項目Aに3件68百万円、研究開発項目B-2に11百万円、計79百万円の加速資金を投入した。 平成22年度には、研究開発項目Aに3件35百万円の加速資金を投入した。</p>	
<p>中間評価結果への対応</p>	<p>総論の指摘事項に対しては、実施方針または実施計画書に反映させることにより、指摘事項への対応を図った。特に、試験法バリデーションの実施、知的財産権の確保、成果の公表と普及、プロジェクト間の研究協力等に注力した。</p> <p>研究開発項目Aについては、評価用細胞の性状解析と品質管理、代謝影響と視覚評価のための全胚培養法の確立、標準プロトコールの共有化、免疫毒性評価システムの構築等に注力した。</p> <p>研究開発項目B-2については、被検化学物質の増大、知的財産権確保、標準プロトコールの公表と標準化、得られたデータの信頼性向上、毒性バイオマーカーの抽出等に注力した。</p>	
<p>評価に関する事項</p>	<p>事前評価</p>	<p>平成17年10月に内部評価を実施 平成18年1月にNEDOPOST3実施 平成18年2月にパブリックコメントに対する方針決定 担当部：バイオテクノロジー・医療技術開発部</p>

		<p>中間評価</p>	<p>平成20年11月5日に中間評価分科会を開催 平成21年2月18日に研究評価委員会を開催 担当部：研究評価広報部 平成21年3月19日に中間評価結果の反映を決定 担当部：企画調整部、研究評価広報部、環境技術開発部</p>
		<p>事後評価</p>	<p>平成23年8月17日に事後評価分科会を開催 担当部：評価部</p>
<p>Ⅲ. 研究開発成果について</p>			<p>研究開発項目A「培養細胞を用いた有害性評価手法の開発」 (a)発がん性予測試験法の開発（食品薬品安全センター、東京大理学系研究科、産業技術総合研究所） Bhas 42 細胞を用いた形質転換試験法について、1) 98 物質を調べ in vivo のデータと比較した、2) 6 ウェル法と 96 ウェル法の同等性を確認した、3) 国内・国際バリデーションを実施した。さらに、Bhas 42 細胞の性状解析を行った。その結果、OECD-TG 収載のためのデータが十分に揃ったことから、OECD に SPSF (Standard Project Submission Form) を平成22年1月末に提出し、3月のOECD-WNT会議において説明し、ガイドライン化に向けて作業を進めることが了承された。 また Bhas 42 細胞形質転換試験のハイスループット化を目指し、1) 培養細胞を用いた毒性試験の基本的な一連の作業（細胞の播種、被験物質の処理、培地交換など）を行う自動化システムを開発した、2) 過酸化水素と生存細胞に反応する色素を組み合わせることで、形質転換をマイクロプレートリーダーで客観的にかつ迅速に定量する方法を開発した（日米：特許審査中、欧：特許登録手続中）。 一方、Bhas 42 細胞形質転換において、発がんプロモーター処理により発現が増加する遺伝子をスクリーニングし、マトリックスメタロプロテイナーゼ 10 遺伝子を選択した。次にこの遺伝子を Bhas 42 細胞に導入し、よく発光するクローンを 6 株樹立した。さらにその中から、発がんプロモーターTPA 処理により、形質転換巣が明瞭に誘発されるクローンを 1 株選んだ。 (b)催奇形性予測試験法の開発（住友化学、鎌倉女子大学、鳥取大学） ES 細胞を利用した催奇形性予測試験法では、マウス ES 細胞から心筋、神経および筋骨格系への分化誘導法を確立した。催奇形性（発生毒性）に関与するマーカー遺伝子を複数同定した（心筋：13 種、神経：22 種）。 次にこれらのマーカー遺伝子の発現を、レポーター遺伝子を利用して簡便に評価可能な組換え ES 細胞（心筋分化過程：Hand1、Cmya1・ES 細胞など 3 種、神経分化過程：Reln・ES 細胞）を作製した。作製した細胞を利用した簡便な発生毒性予測試験方法（Hand1-</p>

、Cmyal-および Reln-EST 法) を提案した。Hand1-および Cmyal-EST 法の予測性を、標準化合物を用いて従来の EST 法と比較した結果、同等以上の予測性を有することが明らかとなり、従来の EST 法よりも短期間(約 1 週間)に多数の化合物を評価可能な方法が確立できた。さらに施設間での再現性の確認や、規格化のための細胞の品質検査も実施した。また、ヒト ES 細胞を用いた検討を行い、マウス ES 細胞で選定したマーカー遺伝子群のヒトにおける有効性も明らかにした。

一方、ラット全胚培養法にラット代謝酵素(S-9 mix)を組み合わせ、代謝による被験物質の変化を考慮した催奇形性予測試験法を開発した。24穴プレートと酸素透過フィルムを用いた培養装置を開発し、培養用の血清を採取する動物数の削減とハイスループット化を達成した。

ES 細胞を利用した催奇形性予測試験法 (EST) とラットの初期胚を用いた全胚培養法 (WEC) を組み合わせることにより、代謝機能を考慮した、より *in vivo* に近い毒性予測が可能であることがわかった。

(c) 免疫毒性予測試験法の開発 (東北大学、東洋紡績)

[上皮細胞 (HaCat)]

同定したマーカー遺伝子 3 種のうち、2 種(hemeoxygenase-1、IL-1 β)について、そのうちいずれかの遺伝子と内在性コントロール Glycerinaldehyde 3-phosphate dehydrogenase (G3PDH) 遺伝子のプロモーター活性を同時に評価できる 2 色安定発光細胞株 (HR38H6、KIL01) を樹立し、その内 HR38H6 を用いて酸化ストレス、ER ストレス、重金属刺激など幅広いストレスを検出できるハイスループット評価系を構築した。

[マクロファージ系細胞 (U937)]

同定したマーカー遺伝子 17 種のうち、3 種(IL-8、IL-1 β 、hemeoxygenase-1)について、そのうちいずれかの遺伝子と内在性コントロール G3PDH 遺伝子のプロモーター活性を同時に評価できる 2 色安定発光細胞株 (UR2H4114、UIL01、TGC17EA01)、また、2 種について、それらの遺伝子と内在性コントロール G3PDH 遺伝子のプロモーター活性を同時に評価できる 3 色安定発光発光細胞株 (6C12) を樹立した。その内、TGC17EA01 に関しては、これを用いた皮膚感作性試験代替法を開発した。また、6C12 を用いては、単球、樹状細胞作用性免疫毒性物質のハイスループット評価系を構築した。

[T 細胞 (Jurkat)]

同定したマーカー遺伝子 10 種のうち、3 種(IL-2、IL-4、IFN- γ)について、そのうち 2 つの遺伝子の組み合わせと内在性コントロール G3PDH 遺伝子のプロモーター活性を同時に評価できる 3 色安定発光細胞株(10C6、2H4)を樹立した。その内、2H4 を用いては、T 細胞作用性免疫毒性物質のハイスループット評価系を構築した。また、6C12

と 2H4 を組みあわせることにより、多様な免疫毒性を評価できるシステムを構築した。

[標準的な試験プロトコル]

TGC17EA01 を用いた皮膚感作性試験代替法および 6C12 と 2H4 を用いた免疫毒性評価系に関しては、標準的な試験プロトコルを作製して複数施設での試験法の安定性を検討した。

(d) 基盤技術 (産業技術総合研究所、東洋紡績、鳥取大学)

① 多色発光システムの高精度化と測定法標準化

発光プローブの応答性を向上させた細胞内半減期が短い多色発光ルシフェラーゼの創製、及び細胞内安定性や耐熱性が向上した赤色発光プローブの改良に成功した。

一方、多色発光システムの高精度化を目指し、標準発光物質として値付けされたルシフェラーゼタンパク質の作製法及び長期安定保存法の開発、さらには外部機関等への供給体制を構築した。さらには値付けられたルシフェラーゼタンパク質を標準光源の代替とした発光測定装置ルミノメーターの絶対感度校正法を確立した。

② ヒト人工染色体技術の導入した多色発光細胞の構築

毒性評価発光細胞の安定化及び効率的な作成法を確立するため、ヒト人工染色体 (HAC) 技術を活用、HAC 発光ベクターを導入した免疫毒性評価用細胞を樹立した。樹立した評価細胞は化学物質を感度よく評価でき、併せて樹立した細胞間のクローナルバリエーションが少ないことを明らかにした。

また、多色発光プローブと HAC ベクターをマルチインテグレーションシステムで融合させた多色発光遺伝子導入システムの開発に成功、複数の遺伝子を効率よく、染色体の特定部位に導入することが可能になった。

研究開発項目 B-1 (基本計画変更前)「遺伝子発現解析技術を用いた発がん性予測手法の開発」

平成 19 年度 8 月末で基本計画を見直し中止した研究開発項目である。本研究開発成果については、本事業原簿巻末の添付資料⑦-1)「高機能簡易型有害性評価手法の開発/遺伝子発現解析技術を用いた発がん性予測手法の開発」平成 18 年度～平成 19 年度報告書 (要約) を参照されたい。

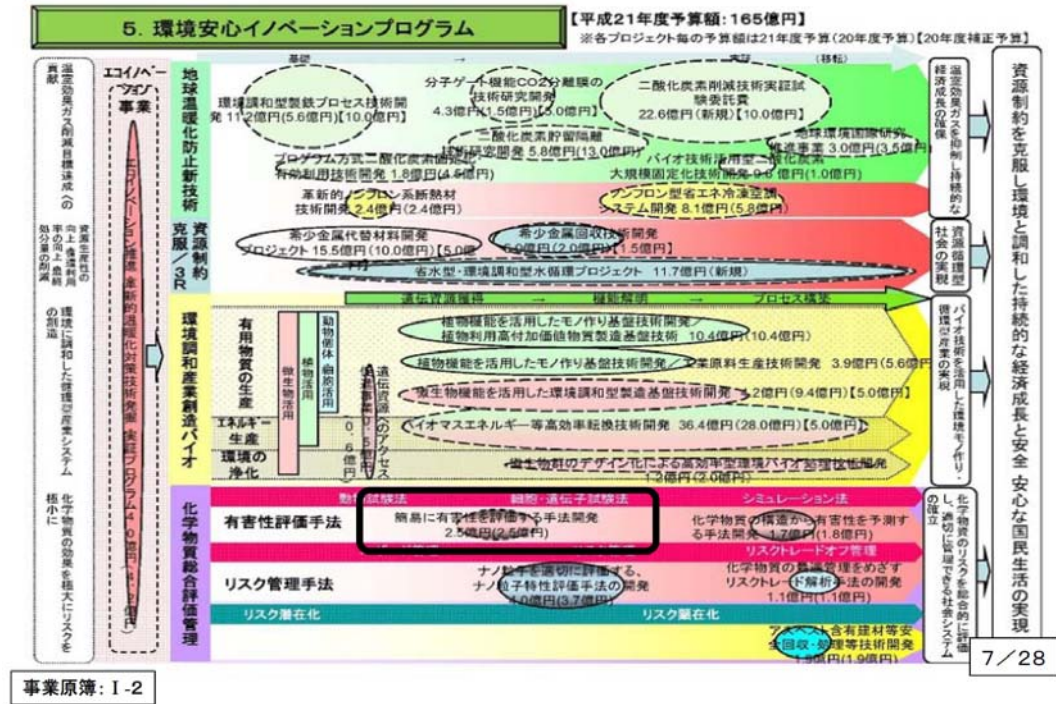
研究開発項目 B-2 (基本計画変更後)「28 日間反復投与試験結果と相關する遺伝子発現データセットの開発」

既存化学物質に係わる毒性学的情報を基に対象化学物質 (40 種類) とその投与実験方法を選択し、28 日間反復投与実験を行い、主要臓器・組織 (ラット一匹あたり 24～26 種類程度) の採取、これらからの遺伝子発現解析用 RNA サンプルの取得、遺伝子発現プロファイル取得と解析を実施した。本事業終了時まで、3,611 種類の臓器・組織を採取した後すべて RNA サンプルとして保存した。さらに、その中から厳選した

	<p>1, 028サンプルについて遺伝子発現プロファイルを取得した。次に、取得した遺伝子発現プロファイルから、それぞれの化学物質を28日間反復投与したことにより各種臓器において発現変動した遺伝子群を抽出した。さらに、それらの遺伝子群と従来の28日間反復投与毒性試験の結果と比較し、複数の化学物質の機能や構造上の共通点に相関する、あるいは、各種の毒性学的所見に関連する遺伝子発現データセットの抽出を行った。その結果、脾臓・腎臓・肝臓・小脳・皮下脂肪などについて合計78セットの遺伝子発現データセットを特定した。</p> <p>本事業で取得した生データは、国立遺伝学研究所が運営する遺伝子発現データベースであるCIBEX (Center for Information Biology gene Expression database) に全て登録して公開した。</p>		
	<table border="1"> <tr> <td data-bbox="539 757 699 801">投稿論文</td> <td data-bbox="699 757 1375 801">「査読付き」51件、「総説・解説・著書」26件</td> </tr> </table>	投稿論文	「査読付き」51件、「総説・解説・著書」26件
投稿論文	「査読付き」51件、「総説・解説・著書」26件		
	<table border="1"> <tr> <td data-bbox="539 801 699 846">特許</td> <td data-bbox="699 801 1375 846">「出願済」21件、「登録」0件、「実施」0件</td> </tr> </table>	特許	「出願済」21件、「登録」0件、「実施」0件
特許	「出願済」21件、「登録」0件、「実施」0件		
	<table border="1"> <tr> <td data-bbox="539 846 699 891">外部発表</td> <td data-bbox="699 846 1375 891">「報道」7件、「講演・学会発表」165件</td> </tr> </table>	外部発表	「報道」7件、「講演・学会発表」165件
外部発表	「報道」7件、「講演・学会発表」165件		
<p>IV. 実用化の見通しについて</p>	<p>研究開発項目A「培養細胞を用いた有害性評価手法の開発」</p> <p>「環境安心イノベーションプログラム」の中で、「2014年度を目途に有害性評価手法等を経済協力開発機構(OECD)にテストガイドラインとして提案することを検討し、国際標準化を推進する。」と規定されている。このため、発がん性予測のためのBhas 42細胞による形質転換試験については、プレバリデーションを平成18年度から実施しており(6ウェル法)、平成21年度には本格的なバリデーションを実施して(96ウェル法)OECDテストガイドライン提案に値する評価結果を得た上で、Bhas 42細胞を用いた形質転換試験法の提案書を平成22年1月末にOECDに提出し、3月のOECD-WNT会議において説明し、ガイドライン化に向けて作業を進めることが了承された。</p> <p>一方、発光細胞による催奇形性・免疫毒性予測法についても、マーカー遺伝子の選択、評価用発光細胞の樹立、標準的な試験プロトコール作成を終了し、施設間差確認試験を実施した。平成23年以降は、免疫毒性・催奇形性については、OECDテストガイドライン提案に向けてバリデーションを開始する予定である。</p> <p>この他、得られた成果を基盤にレポーターアッセイ系の応用、その試薬の市販化など、数多くの実用化に向けた計画も進行しつつある。</p>		

	<p>研究開発項目B-2「28日間反復投与試験結果と相関する遺伝子発現データセットの開発」</p> <p>開発された遺伝子発現データセットにより、既存化学物質の28日間反復投与試験に係わる既存の膨大な「言語による記述的要素」のやや多い毒性学的情報に、「計算可能な数値的要素」からなるトキシコゲノミクスの情報を関連づけられることが可能となり、新たな視点からの有害性評価手法開発のための知的基盤を提供し得るものと考えている。そのため、化学物質の有害性評価に特に有用であると考えられる遺伝子セットについて特許出願により知的財産権の確保を行った後、順次、本事業で得られたすべての遺伝子発現データを国立遺伝学研究所のデータベースで公開することとしている。さらに、本事業で取得したデータを広く社会で使えるようなシステムとして編集・編纂した本事業の成果データベース「遺伝子発現情報統合データベース（仮称）」を別途構築し、「既存化学物質毒性評価データベース」（国立医薬品食品衛生研究所）、「CIBEX（Center for Information Biology gene EXpression database）」（国立遺伝学研究所）、および「H-Inv DB（Annotated Human Gene Database）」（産業技術総合研究所）とインターネット上の直接リンクの構築を依頼する予定である。これにより、膨大な従来の毒性学的知見と本事業で取得・開発するトキシコゲノミクスの知見の融合と相互の円滑な連携的發展が図れることとなる。</p> <p>さらに、本事業で同定した各種臓器における毒性バイオマーカーまたは有害性評価用遺伝子セット（生体応答遺伝子セット）に関しては、キット化または受託解析ビジネスへの展開が期待できる。</p>	
V. 基本計画に関する事項	作成時期	平成18年3月制定。
	変更履歴	<p>平成19年10月改訂、研究開発項目B-2の開始。</p> <p>平成20年7月、イノベーションプログラム基本計画の制定により、「(1) 研究開発の目的」の記載を改訂。</p> <p>平成22年3月、「化学物質リスク評価管理技術体系の構築（第2期）」基本計画に統合。</p>

技術分野全体での位置づけ
(分科会資料6より抜粋)



研究開発項目

- 研究開発項目A 培養細胞を用いた有害性評価手法の開発
- 研究開発項目B-1 遺伝子発現解析技術を用いた発がん性予測手法の開発 **平成19年8月末中止**



●研究開発項目A
培養細胞を用いた有害性評価手法の開発

●研究開発項目B-2
28日間反復投与試験結果と相関する
遺伝子発現データセットの開発
平成19年12月開始

代替法の開発が進んでいない「技術の空白域」の毒性

H17年度NEDO調査事業
発がん性、生殖・発生毒性、
皮膚感作性(免疫毒性)

慢性毒性

事業原簿: I-14

事業原簿: I-8

11/28

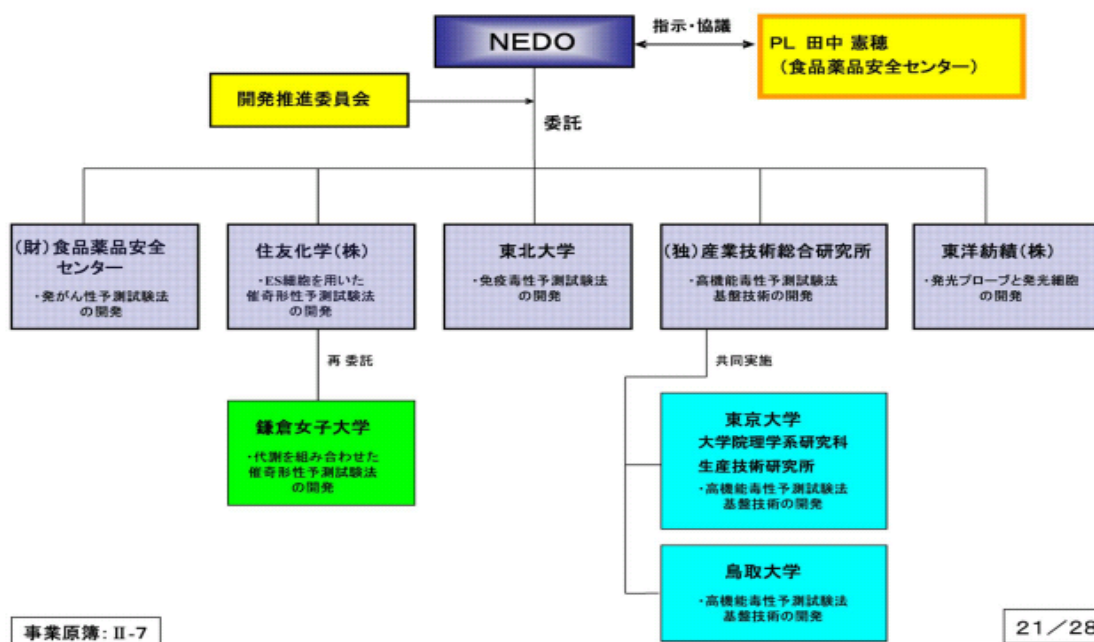
「高機能簡易型有害性評価手法の開発」

全体の研究開発実施体制

「培養細胞を用いた有害性評価手法の開発」

Ⅱ. 研究開発マネジメント
実施体制(A)

公開



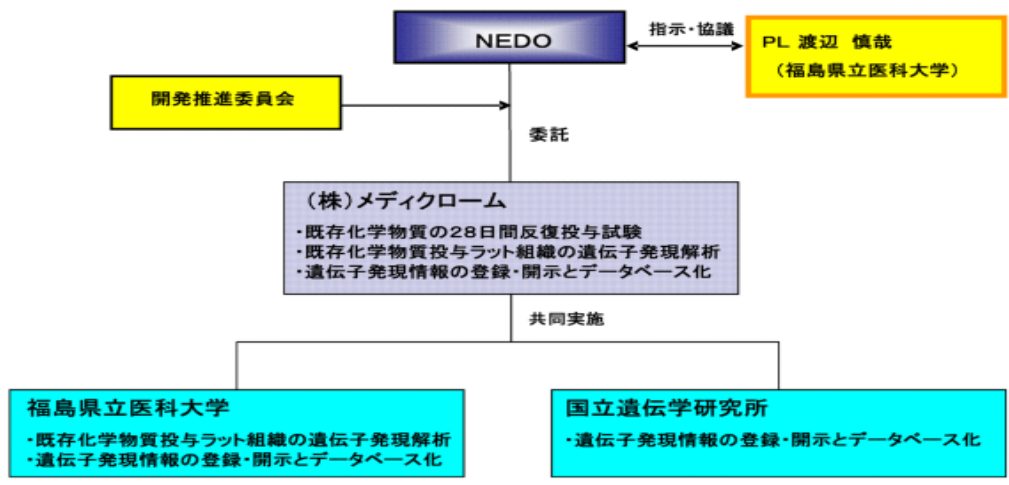
事業原簿: II-7

21/28

「28日間反復投与試験結果と相関する遺伝子発現データセットの開発」

Ⅱ. 研究開発マネジメント
実施体制(B-2)

公開



事業原簿: II-8

22/28

「化学物質リスク評価管理技術体系の構築（第2期）／ 高機能簡易型有害性評価手法の開発」（事後評価）

評価概要（案）

1. 総論

1) 総合評価

本プロジェクトは化学物質の適正管理が要求される国際的な潮流の中で、管理の基本となる化学物質の有害性評価がボトルネックの一つとなっている現状に対応する試みであり、公的な関与が必要とされる研究として NEDO がプロジェクトを遂行したことは妥当である。プロジェクトの遂行は明確な目標のもとに適切に行われた。「培養細胞を用いた有害性評価法の開発」は独創性が高く、学問的価値も高いと同時に実用化が期待される。動物代替試験を提案し、特に発がん性予測では、OECD テストガイドラインの提案に至ったことは評価できる。また、基盤研究のルシフェラーゼによる 3 色発光系の成果も評価できる。

「28 日間反復投与試験結果と関連する遺伝子発現データセットの開発」は、遺伝子発現プロファイルの取得とその公開について、研究基盤としての価値を認める。しかしながら、得られた遺伝子発現データセットの妥当性の科学的検証が十分には行われておらず、また、実用化の具体的提示には至らなかった。

2) 今後に対する提言

「培養細胞を用いた有害性評価手法の開発」に関しては、基盤技術をベースとした科学的にも技術的にもレベルの高いものであり、実用化に関して魅力のあるデータが提示されている。今回開発した培養細胞を用いる試験法の類似研究は、我が国以外でも同様に実施されていることを想定した上で、OECD ガイドライン化にはバリデーションも含め戦略的な進め方が必要である。また、法規制の改正（例えば、承認申請時の *in vitro* 試験結果の受け入れ等）についても同時並行した形での国家レベルの動きに期待したい。なお、自動化に際して必要な手法（過酸化水素法、多色発光測定法など）の研究開発された新技術が、標準化を目指す *in vitro* 試験法のガイドラインへの提案プロトコルに組み込まれていない。時間的制約であることは十分に理解できるが、OECD 等においてガイドラインを主導する際に、それぞれの試験法で利用可能なものとしてあらかじめ例示できるように工夫されると、成果の活用がより進む。

一方、「28 日間反復投与試験結果と関連する遺伝子発現データセットの開発」での遺伝子発現プロファイルの取得と公開は一定の価値を認めるが、成果の活

用や今後の実用化についての見通しは十分にあるとはいえない。研究成果をより普及させるためには、今後の活用について、本プロジェクト外の有識者も含めた検討を考慮することも必要と考える。

2. 各論

1) 事業の位置付け・必要性について

化学物質管理に関する国際的な変化や動物愛護の要請への対応が政策、市場の両面で必要であった時代背景のもと、国際的に流通可能な *in vitro* 試験法の開発は急務であり、国際貢献の機会がある。公共性の高い分野であるとともに、標準化を主導することは国際競争力の強化にもつながる。民間活動のみでは改善できないものであり、公的な関与が必要とされるプロジェクトである。

また、NEDO の事業として目標達成に関する政策への対応性は十分考慮されて設定されている。従来の化学物質のリスク評価に欠けている事項を充足すべく設計し、完成時の有効性への視野も盛り込まれている。

2) 研究開発マネジメントについて

「培養細胞を用いた有害性評価手法の開発」では、内外の毒性試験の状況、動物福祉動向等を踏まえて、戦略的かつ具体的な目標が設定されている。目標達成に必要な要素技術として多色発光システムを適切に取り上げている。また、国際的な VMT (バリデーション・マネージメント・チーム) 委員会をはじめ、開発推進委員会、運営会議など数多く実施し、適切な研究開発チームとして必要な実施者間の連携が行われている。試験法の標準化を目指すことなどを強く指向するなど、研究開発成果の実用化に向けたマネジメントは適切に行われている。知的財産権の取得を前提として開発がなされ、知財マネジメントも良好である。PL の役割も明確で適切である。

一方、「28 日間反復投与試験結果と関連する遺伝子発現データセットの開発」の目標設定に関しては、国内および全世界のトキシコゲノミクスデータの集積および活用状況、コンソーシアムの活動状況、毒性研究者のニーズを十分に調査したうえで設定すべきであった。また、研究開発項目に対してそれぞれの独立した実施体制が構築されており、お互いの連携関係が見えにくい。

3) 研究開発成果について

「培養細胞を用いた有害性評価手法の開発」では成果は世界最高水準の目標値をクリアしている。全体としての目標達成度は高い。発がん性予測は発がん性試験のスクリーニングとして、免疫毒性試験は LLNA (Local Lymph Node Assay) の代替法として市場の拡大或いは市場の創造につながることを期待でき

る。催奇形性予測試験も世界最高水準のプロジェクトで、骨の分化や代謝系の導入により、今後の発展の可能性を十分に持っている。基盤となる多色発光細胞は信頼性が高く、今回の評価手法開発に大いに役立った。また、国際標準化に関する事項が計画されており、得られた研究開発の成果に基づく国際標準化に向けた提案がなされ、標準化に向けた取組が適切に行われている。国際的な標準化に至らないものもあるが、OECDでの採択が予定されるなど、成果は目標値を達成している。

一方、「28日間反復投与試験結果と相関する遺伝子発現データセットの開発」について、プロフィールの取得と公開、知的財産権の取得がなされたが、遺伝子発現データセットの解析方法、28日間反復投与試験結果との相関についての考察は、誌上発表等により学術的評価を受ける必要がある。全臓器を対象として、遺伝子発現データセットを取得・公開するという目的は達成されているが、採取したすべての試料に対しプロフィールデータが得られていない。

4) 実用化の見通しについて

本プロジェクトで整備した「培養細胞を用いた有害性評価手法の開発」は、いずれも簡易評価系として実用化の可能性はある。そのうち発がん性予測試験法と皮膚感作性予測試験法は公的評価機関のテストガイドライン採用の可能性があり、OECDテストガイドライン化に向けた国内バリデーションおよび国際バリデーションについては、発がん性予測試験法は実施済みであり、皮膚感作性予測試験法は今後の計画がある。催奇形性予測試験法は動物実験代替法としてすでに開発されていたEST(ES細胞を用いた試験法)を発展・改良させた位置づけで認知され、企業内の化学物質リスクアセスメントや医薬品の催奇形スクリーニングとして活用される価値がある。いずれの有害性予測試験においても有用な動物実験代替法であることからこれら日本発の代替法が世界標準となれば動物愛護に関するわが国の関心度を示す波及効果もある。

一方、「28日間反復投与試験結果と相関する遺伝子発現データセットの開発」は、データベースを公開したことは評価できるが、遺伝子発現データセットの妥当性、実用性についての検証が不足している。波及効果は限定的であり、実用化の可能性は不明である。

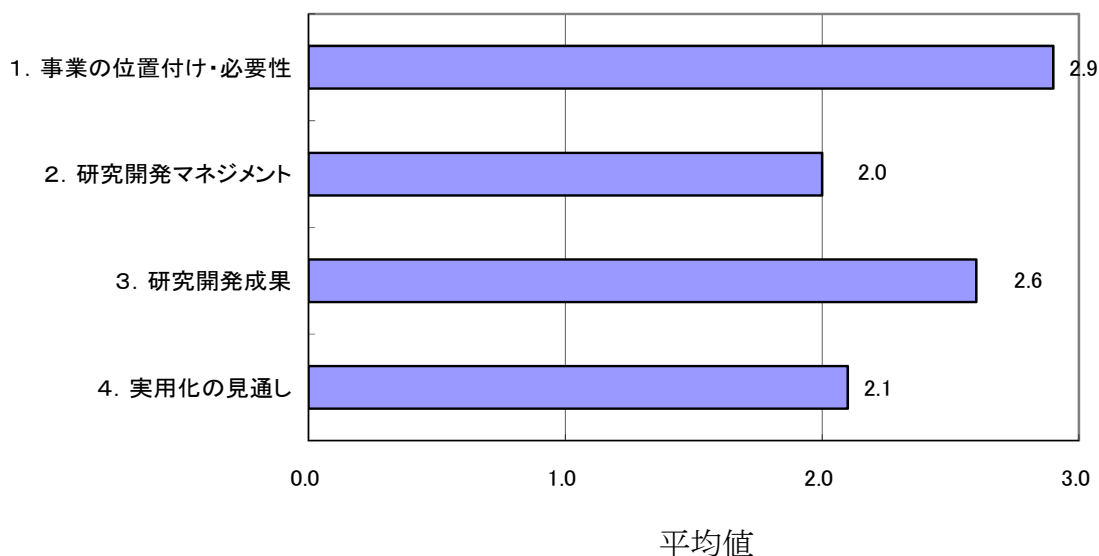
個別テーマに関する評価

	成果に関する評価	実用化の見通しに関する評価	今後に対する提言
培養細胞を用いた有害性評価手法の開発	<p>がん性、免疫毒性、催奇形性予測試験法の標準的試験プロトコルが作成されている。発がん性の研究成果に関しては OECD におけるテストガイドライン (TG) 化に向けた見通しが得られ、免疫毒性予測試験法、催奇形性予測試験法についても、それぞれバリデーションが計画されている。全体としての目標達成は良好である。論文の発表、知的財産権等の取扱等は、研究内容を踏まえ適切に行われている。</p> <p>一方、Multi-Immunotox assay のバリデーションが諸事情で加速化されないのは残念である。催奇形性毒性については、胎盤機能関与についても考慮に入れて評価系を考える</p>	<p>発がん性予測は発がん性試験のスクリーニングとして、免疫毒性試験は LLNA (Local Lymph Node Assay) の代替法として市場の拡大、或いは市場の創造につながることを期待できる。催奇形性予測試験も世界最高水準のプロジェクトで、骨の分化や代謝系の導入により、今後の発展の可能性を十分に持っている。免疫毒性試験は LLNA の代替法として用いられる可能性が高いが、毒性試験のみならず、製薬会社における抗アレルギー薬の開発にも用いられる可能性が高い。催奇形性予測試験も骨の分化や代謝系の導入により、スクリーニングとして用いられる可能性がある。</p> <p>さらに、それぞれ OECD テストガイドライン化を目指した活動が続けられており、世界各地域の規制当局の試験方法として採択されるレベルでもあることから、テストガイドライン化が実現した際</p>	<p>本プロジェクトで開発された方法を広く普及させるためには、「リスクアセスメント」での活用検討が必要となる。本プロジェクトで開発された方法による試験結果を、リスクアセスメントで活用するためのシステム開発を、NEDO または経済産業省の後継プロジェクトとして検討されたい。開発された個々の試験法については、各細胞の代謝酵素の profiling などによる試験の性格付け、形質転換の分子機序の詳細な解明、胎盤機能障害の予測試験との組み合わせも今後の検討課題であると思われた。</p>

	<p>事が必要かもしれない。</p>	<p>には公的機関への提出データとして使用され、広く普及する試験法となる可能性がある。</p>	
<p>28日間反復投与試験結果と 관련된 遺伝子発現データセットの開発</p>	<p>既知のデータベースに収載された40化合物について、26臓器を対象に遺伝子発現と毒性発現との関係を検討し、新規のバイオマーカーを見出し10件の特許出願している点並びに遺伝子発現情報統合データベースは、8月15日にWEBで公開された点は評価できる。しかし、学会、一般、新聞等への発表数が少なく、一般に向けて広く情報発信をしているとは言い難い。論文(査読付き)および講演はそれぞれ1件のみであり、遺伝子発現データセットの学術的意義を考えれば物足りない。採取したすべての試料に対しプロファイルデータが得られておらず、網羅的なデータ整備には至っていない。な</p>	<p>遺伝子発現データとして整備・公開した知的基盤についての利用が想定される。また、得られた情報を利用して、化学物質(薬剤)の開発支援業務を行う手段は考えられている。</p> <p>しかし、プロジェクト参加企業、および、その他試薬・検査薬メーカー等によるキット・受託ビジネス展開と波及効果の見通しが十分には得られていない。既知化合物から得られた成果が、新規化合物の毒性予測に、本当に役立つのか否かという検証研究が必要である。また、今後の追加情報取得については、本プロジェクトの結果を踏まえて今年度、経済産業省が開始した研究開発プロジェクトに引き継がれる。</p>	<p>飛躍的に増加する化学物質に対応可能な有害性評価法の達成のためには、通常反復投与試験(28日間反復投与試験)に比べてより短期の動物実験、in vitro系あるいはin silico系の開発が期待される。今後はより短期間の反復投与によって有害性を予測できる試験系の検討が望まれる。</p> <p>さらに、化学物質の有害性を簡便に把握する試験系の開発においてはユーザーのニーズと研究の到達点を今一度調査、吟味する必要がある。</p>

	<p>お、毒性試験のエンドポイントとなる病理学的変化に対応する同時点の遺伝子発現情報は、病理学的変化の原因なのか、過程なのか、結果なのか判別が難しい。毒性を予測する遺伝子データセットの構築には生理的な反応から病態の進行に至るまでの経過を追った遺伝子発現の検討と解析が必要と考えられる。</p>		
--	--	--	--

評点結果〔プロジェクト全体〕



評価項目	平均値	素点 (注)							
		A	A	A	A	A	A	B	B
1. 事業の位置付け・必要性について	2.9	A	A	A	A	A	A	B	
2. 研究開発マネジメントについて	2.0	B	B	B	B	B	B	B	B
3. 研究開発成果について	2.6	A	A	A	A	B	B	B	
4. 実用化の見通しについて	2.1	A	B	B	B	B	B	B	B

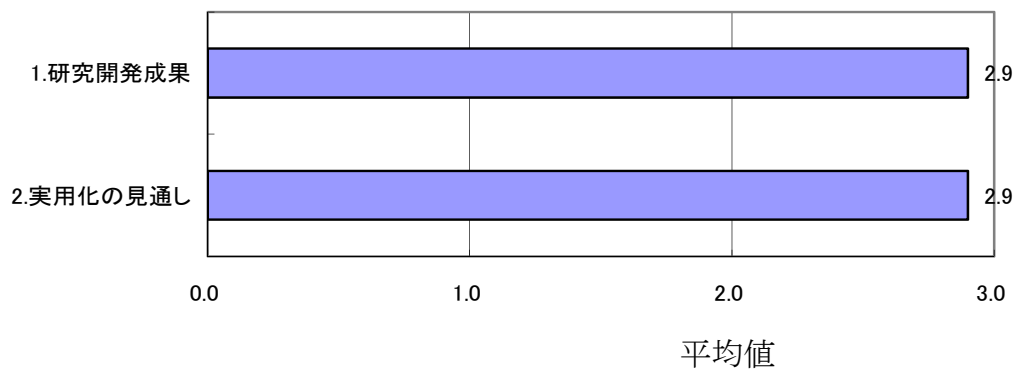
(注) A=3, B=2, C=1, D=0 として事務局が数値に換算し、平均値を算出。

〈判定基準〉

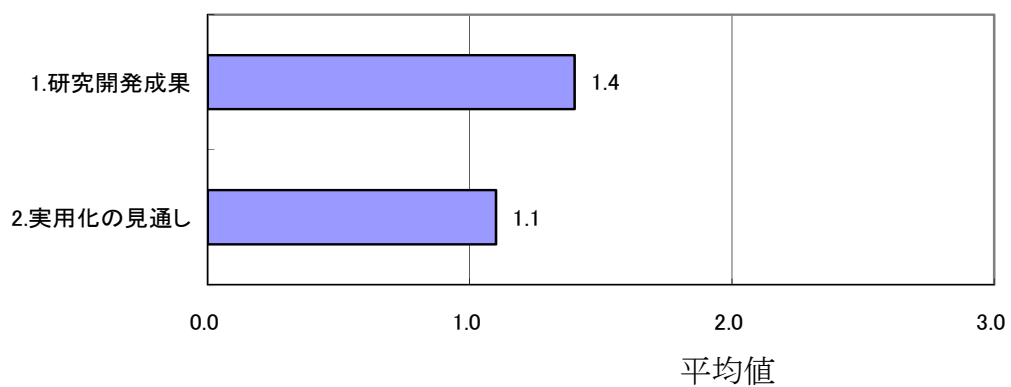
1. 事業の位置付け・必要性について	3. 研究開発成果について
・非常に重要 →A	・非常によい →A
・重要 →B	・よい →B
・概ね妥当 →C	・概ね妥当 →C
・妥当性がない、又は失われた →D	・妥当とはいえない →D
2. 研究開発マネジメントについて	4. 実用化の見通しについて
・非常によい →A	・明確 →A
・よい →B	・妥当 →B
・概ね適切 →C	・概ね妥当であるが、課題あり →C
・適切とはいえない →D	・見通しが不明 →D

評点結果〔個別テーマ〕

培養細胞を用いた有害性評価手法の開発



28日間反復投与試験結果と相関する遺伝子発現データセットの開発



個別テーマ名と評価項目	平均値	素点（注）							
培養細胞を用いた有害性評価手法の開発									
1. 研究開発成果について	2.9	A	A	A	A	A	A	A	B
2. 実用化の見通しについて	2.9	A	A	A	A	A	A	B	A
2 8 日間反復投与試験結果と相関する遺伝子発現データセットの開発									
1. 研究開発成果について	1.4	C	C	C	C	B	B	B	B
2. 実用化の見通しについて	1.1	C	C	C	C	B	C	C	C

（注） A=3, B=2, C=1, D=0 として事務局が数値に換算し、平均値を算出。

〈判定基準〉

1. 研究開発成果について

- ・非常によい
- ・よい
- ・概ね適切
- ・適切とはいえない

2. 実用化の見通しについて

- A ・明確
- B ・妥当
- C ・概ね妥当であるが、課題あり
- D ・見通しが不明

以上