



# 日本化学工業協会 研究支援自主活動

Long-range Research Initiative

(長期自主研究)

## Annual Report 2012



# 2012

# LRI Annual Report 2012

一般社団法人 日本化学工業協会



## はじめに

### LRI 運営委員会委員長からのメッセージ

# 「新LRI研究に期待する」

本「アニュアルレポート2012」は、第12期(2011年9月研究開始/2012年8月研究終了)のLRI委託研究成果について、担当による研究概要、研究者自身による研究成果の概要および学術発表について冊子にまとめたもので、後述の「新LRI」発足以前の研究委託に対する成果報告となります。LRI(Long-range Research Initiative: 長期自主研究)とは、人の健康や環境に及ぼす化学物質の影響に関する研究支援を通じて、その成果を科学的根拠に基づく化学物質管理に役立てようとする化学業界の自主活動の一つで、国際化学工業協会協議会(ICCA)のもと日米欧3極の化学工業協会(日化協、ACC、Cefic)が協力して推進しているものです。

日化協では2000年からLRIに取り組み、これまでに、簡便な安全性試験法の開発や、OECDテストガイドラインなど国際標準となる試験法提案への支援、各省の委託研究プロジェクト採択に繋がる発展研究支援等、種々の成果を挙げてまいりました。

一方、開始後10年が経過し、昨今の化学物質管理の世界的動向の変化、化学物質関連規制の整備・強化、ビジネス推進のための川下産業や一般消費者への情報提供の必要性等、化学産業界を取り巻く環境の大きな変化を背景に、これまでのLRIを見直し、社会や産業界のニーズにタイムリーに伝えていく「新LRI」構築に向け、新たな取り組みを展開する改革案を昨年度まで検討し、今後取り組むべき研究分野として、①「新規リスク評価手法の開発と評価」、②「ナノマテリアルを含む、新規化学物質の安全性研究」、③「小児、高齢者、遺伝子疾患などにおける化学物質の影響に関する研究」、④「生態・環境への影響評価」、⑤「その他、緊急対応が必要とされる課題」の5分野を定めました。

2012年度はこれらの改革案を実現する年として、「運営委員会」や「企画管理部会」など会員企業委員が積極的に運営に関与する新たな推進体制を構築し、上記分野について、従来の「公募」による研究課題採択に加え、日化協として自らが解決すべき研究課題を提案する「指定課題」による委託研究を進めるなど、会員企業や社会のニーズに応える具体的な研究成果の達成に向けた取り組みを進めてまいりました。その成果が化学物質管理の枠組みとして諸規制に反映されるような課題設定をおこない、学術専門家や政策立案者等との間での更なる継続した話し合いや検討を進めていきたいと考えております。

2013年は新LRIの2年目となります。会員皆様のご協力を得て、LRIの運用上の決裁権限、実行権限と責任を有する意思決定機関である「運営委員会」のもと、個々の組織が円滑に機能し、更なる成果達成に向けて機能していくことを期待します。

2013年3月

LRI 運営委員会委員長 (昭和電工株式会社 執行役員 研究開発部管掌 兼 事業開発センター長) 中條 哲夫

## 1. Long-range Research Initiative (LRI) について

### (1) LRI とは

LRI とは日米欧の化学産業界(日本化学工業協会、米国化学工業協会、欧州化学工業連盟)が国際化学工業協会協議会 (ICCA : International Council of Chemical Associations)のもと、協力して推進している自主活動の一つで、人の健康や環境に及ぼす化学物質の影響に関する研究を長期的に支援する活動のことです。

日本化学工業協会では、会員企業から出資された基金をもとに運営されております。

### (2) 目的

研究の実施あるいは支援によって次のことを目指しています。

- ①化学物質と健康・環境に関する科学知識を広げること
- ②試験法やスクリーニング手段の開発により製品管理能力の向上を推進すること
- ③科学的根拠に基づく公共政策の決定を支援すること

により、レスポンスブル・ケア活動の一部を担っています。

### (3) これまでのLRIの成果

#### 簡便な安全性試験方法の開発

- 神経毒性研究における行動学習試験法、迅速スクリーニング手法

#### OECD 試験ガイドラインなど国際標準となる試験方法への提案

- 発がん性評価におけるin vitro 迅速スクリーニング手法

#### 各省委託研究プロジェクト採択への発展的展開

- 環境省 ExTEND2005 研究費、厚生労働省科学研究費など、LRI 研究者多数が受託

#### 米国環境保護庁データベースへの収載

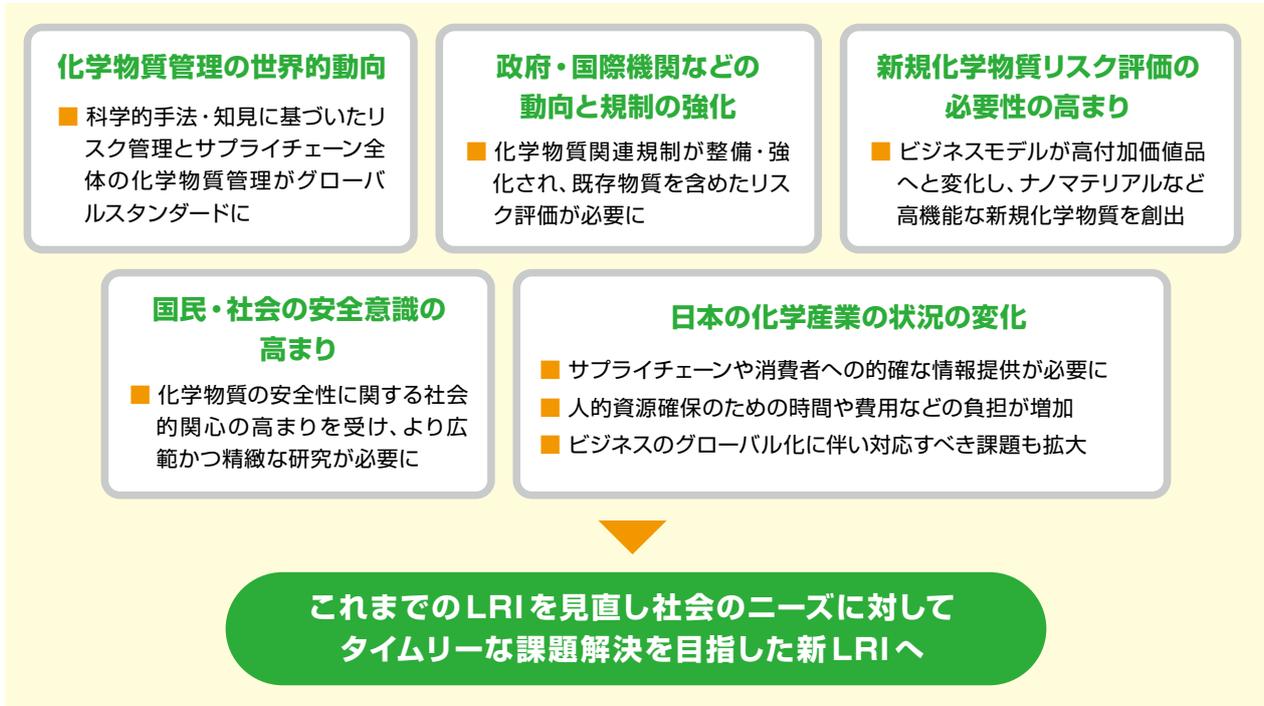
これらのほか、10年以上にわたる活動により、様々な成果が得られています。



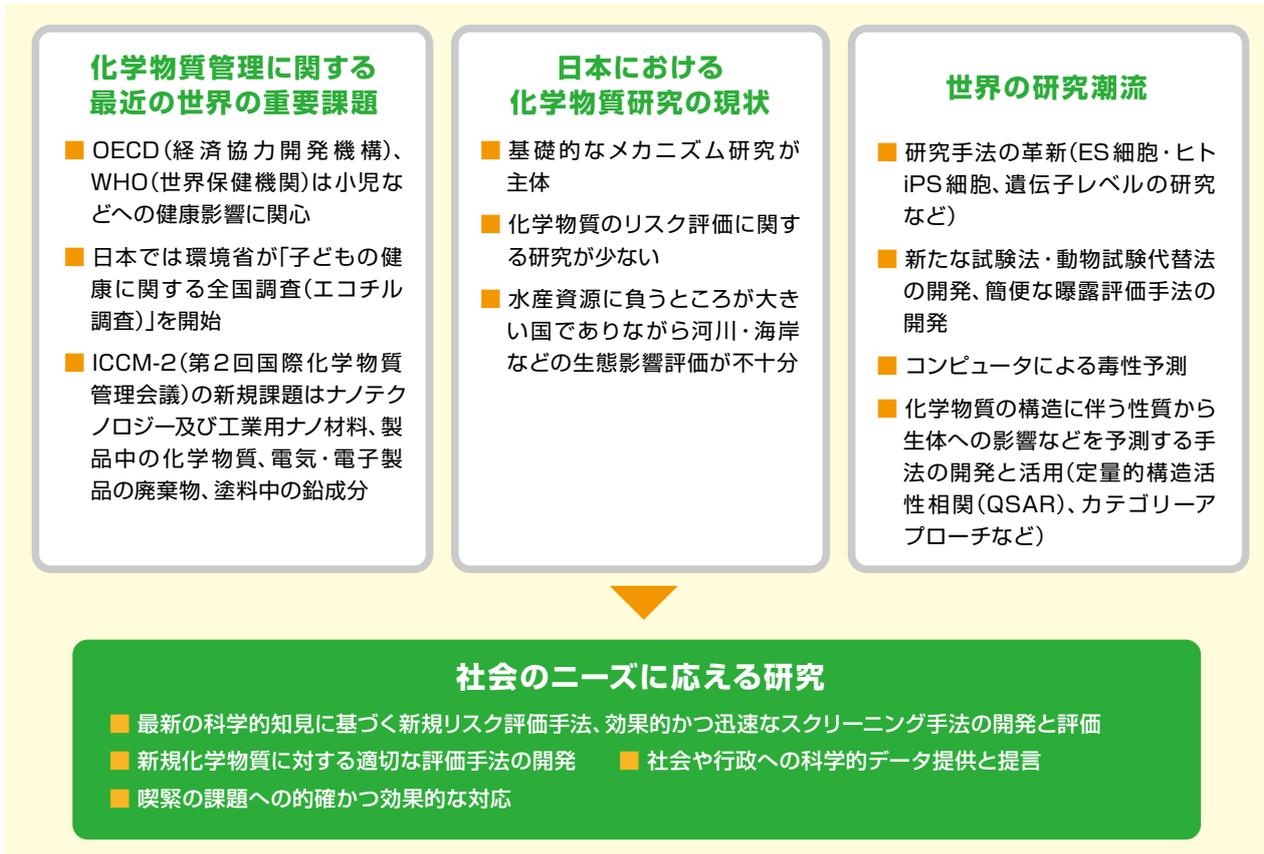
## (4) 新LRIに向けて

### ① LRIの改革を求めて

化学物質管理における世界的な課題や研究の現状を反映するため、LRIの改革が求められました。



### ② 化学物質管理に関する課題と研究の現状



### ③ 新LRIの取り組み

#### 課題解決型研究の推進

- 社会のニーズ、緊急性を反映した「課題解決型研究」を主とし、これまでの公募に加えて、委託先を指定する「指定課題研究」や既存研究を加速する「共同研究」を導入します
- 研究資金は、課題の重要性や進め方に即して柔軟に配分します
- 化学品規制に関する科学的知識が豊富な研究者の育成を推進します

#### 情報発信

- 研究成果は積極的に学会や論文審査のある学術誌に逐次発表します
- 社会的に関心の高いテーマを取り上げた公開の講演会や研究報告会を開催します

#### その他

- 広くシンクタンクなどを活用し、調査・研究企画機能を強化します
- 有識者、学識経験者を迎えて顧問会議、学術諮問会議を設け、運営や課題立案における科学的妥当性、透明性の確保を図ります

### ④ 5つの取り組むべき研究分野

1	新規リスク評価手法の開発と評価
2	ナノマテリアルを含む、新規化学物質の安全性研究
3	小児、高齢者、遺伝子疾患などにおける化学物質の影響に関する研究
4	生態・環境への影響評価
5	その他、緊急対応が必要とされる課題

## (5) 組織

LRIの組織は、

- 会員企業の研究開発、研究管理に関する統括的責任者等から構成され、日化協LRIの運用上の一切の決裁権限、実行権限と責任を有する意思決定機関である「**LRI運営委員会**」
- 会員企業の研究開発、研究管理に関する責任者等から構成され、運営委員会の決定事項を具体的に審議、検討し、実施する「**LRI企画管理部会**」
- 会員企業における化学物質管理に関わる高度な学術的専門知識を有するエキスパート等により構成され、研究委託課題の採択、モニタリングや評価を通じて具体的に委託研究課題の推進を担当する「**LRI研究推進パネル**」
- 有識者等から構成され、化学物質管理に関わる国内外の社会情勢および最新の研究動向を踏まえて、LRIに関する高度な戦略的提言や科学的視点からの助言を与える「**LRI顧問会議**」（LRI運営委員会の諮問機関）
- 研究者および専門家等から構成され、企画管理部会および研究推進パネルの各業務で発生する各種課題に対して、技術的・学術的な助言を与える「**LRI学術諮問会議**」（LRI企画管理部会及び、LRI研究推進パネルの諮問機関）

から構成されています。



各委員は以下のとおり

■ LRI 顧問会議 委員名簿(敬称略)

2013年3月1日現在

氏名	所属 役職等
● 議長	
岩本 正和	東京工業大学 教授 北海道大学 名誉教授
● 副議長	
安井 至	独立行政法人製品評価技術基盤機構 理事長
北野 大	明治大学 理工学部応用化学科 教授
小出 重幸	日本科学技術ジャーナリスト会議 理事
武居 綾子	有限会社イカルス・ジャパン 取締役社長
堤 康央	大阪大学大学院 薬学研究科長
西原 力	兵庫医療大学 薬学部 教授
林 真	公益財団法人食品農医薬品安全性評価センター 理事長
福島 昭治	中央労働災害防止協会日本バイオアッセイ研究センター 所長
山根 香織	主婦連合会 会長
山本喜久治	日本化学エネルギー産業労働組合連合会 総合研究所 代表

■ LRI 学術諮問会議 委員名簿(敬称略)

2013年3月1日現在

氏名	所属 役職等
青山 博昭	一般財団法人残留農薬研究所 業務執行理事 毒性部長
井口 泰泉	自然科学研究機構 基礎生物学研究所岡崎統合バイオサイエンスセンター生命環境研究領域 教授
楠原 洋之	東京大学大学院 薬学系研究科 教授
小島 肇	国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 薬理部 新規試験法評価室長
櫻谷 祐企	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 安全審査課主任
白石 寛明	独立行政法人国立環境研究所 環境リスク研究センター長
高橋 由雅	豊橋技術科学大学大学院 工学研究科 教授
武林 亨	慶應義塾大学 医学部衛生学公衆衛生学教室 教授
垣生 園子	順天堂大学 医学部 客員教授
広瀬 明彦	国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 総合評価研究室長
深井 文雄	東京理科大学 薬学部 教授
藤原 英明	大阪大学 名誉教授
善本 隆之	東京医科大学 医学総合研究所 免疫制御研究部門 教授

# 1. Long-range Research Initiative (LRI) について

■ LRI 運営委員会 委員名簿(敬称略) 上段:正委員 下段:代理委員

2013年3月1日現在

企業名	委員名	所属 役職等
昭和電工(株)	中條 哲夫	執行役員 研究開発部管掌 兼 事業開発センター長
	小山 珠美	事業開発センター 安全性試験センター長
旭化成(株)	清水 健康	環境安全部担当部長
	竹本 彰広	環境安全部担当部長
旭硝子(株)	荻村 嘉伸	化学品カンパニー CSR室室長
	中島 義勝	化学品カンパニー CSR室 環境・安全統括G 主幹
花王(株)	武馬 吉則	常務執行役員 研究開発部門統括 品質保証本部担当
	徳田 一	安全性科学研究所長
住友化学(株)	坂田 信以	理事 生物環境科学研究所長
	佐藤 雅之	レスポンスシブル ケア室 化学品安全部長
積水化学工業(株)	上ノ山智史	取締役常務執行役員 R&Dセンター所長
	阿部 弘	CSR部環境経営グループ グループ長
DIC(株)	阿河 哲朗	取締役常務執行役員 技術統括本部長
	入間川伸一	レスポンスシブル・ケア部長
東ソー(株)	鯉江 泰行	常務取締役 機能商品セクター長 高機能材料事業部長
	西澤恵一郎	取締役 研究企画部長 南陽研究所 四日市研究所 東京研究所担当 東京研究センター担当
東レ(株)	船曳 長武	理事 生産本部(環境、保安)担当、地球環境事業戦略推進室担当 製品安全・品質保証企画室長、REACH対策推進室長
	宮本 庸平	医薬研究所 安全性研究室長
日本化薬(株)	森田 博美	取締役 常務執行役員 研究開発本部長
	金沢 吉夫	生産技術本部 環境安全推進部長
(株)日本触媒	長砂 欣也	執行役員 研究本部長
	小林 博也	レスポンスシブル・ケア室 室長
富士フイルム(株)	福岡 正博	CSR推進部環境・品質マネジメント部長
	日置 孝徳	CSR推進部環境・品質マネジメント部 安全性評価センター長
三井化学(株)	竹本 元	常務取締役 生産・技術本部長
	伊藤 潤平	生産・技術本部 生産・技術企画部 環境・安全センター長
(株)三菱ケミカルホールディングス	木曾 誠一	執行役員 ヘルスケアソリューション室長
	原田 靖之	三菱化学株式会社 環境安全・品質保証部 部長代理
ライオン(株)	角井 寿雄	取締役執行役員 研究開発本部長、知的財産部担当
	原田 房枝	研究開発本部 環境・安全性評価センター所長
日本化学工業協会	庄野 文章	常務理事

■ LRI企画管理部会 委員名簿(敬称略) 上段:正委員 下段:代理委員

2013年3月1日現在

企業名	委員名	所属 役職等
DIC(株)	阿河 哲朗	取締役常務執行役員 技術統括本部長
	入間川伸一	レスポンスシブル・ケア部長
花王(株)	森田 修	安全性科学研究所 主席研究員
昭和電工(株)	小山 珠美	事業開発センター 安全性試験センター長
住友化学(株)	佐藤 雅之	レスポンスシブル ケア室 化学品安全 部長
東ソー(株)	鯉江 泰行	常務取締役 機能商品セクター長 高機能材料事業部長
	西澤恵一郎	取締役 研究企画部長
富士フイルム(株)	日置 孝徳	CSR推進部環境・品質マネジメント部 安全性評価センター長
三井化学(株)	伊藤 潤平	生産・技術本部 生産・技術企画部 環境・安全センター長
(株)三菱ケミカルホールディングス	木曾 誠一	執行役員 ヘルスケアソリューション室長
	原田 靖之	三菱化学株式会社 環境安全・品質保証部 部長代理
ライオン(株)	原田 房枝	研究開発本部 環境・安全性評価センター所長

■ LRI 研究推進パネル 委員名簿(敬称略)

2013年3月1日現在

企業名	委員名	所属 役職等
昭和電工(株)	小川 良二	事業開発センター 安全性試験センター リサーチャー
	萩原 雄二	事業開発センター 安全性試験センター シニアリサーチャー
旭化成(株)	伊藤 尚史*1	旭化成ケミカルズ株式会社 環境安全部 主幹研究員
	奥村 広	旭化成ファーマ株式会社 RC 推進室 室長
旭硝子(株)	篠原 基輝	化学品カンパニー CSR室 環境・安全統括グループ 物質安全グループ 主幹
花王(株)	玉置 康	品質保証本部 技術法務センター 家庭品技術法務室 主任部員
(株)資生堂	瀬上 桂子	グローバル薬務推進部 欧州・ASEAN・新興国グループ
住友化学(株)	辻 良三	生物環境科学研究所 主席研究員
	稲若 邦文	生物環境科学研究所 生体科学グループ 主席研究員
DIC(株)	池田 数馬	レスポンシブル・ケア部 海外環境安全担当課長
東ソー(株)	村山 敬一	東京研究所 企画管理グループ 主席研究員
三井化学(株)	大坂 毅	化学品安全センター 安全性評価グループ 主席部員
(株)三菱ケミカルホールディングス	隈本 英朗	ヘルスケアソリューション室 部長
	斎藤 健一	ヘルスケアソリューション室 部長
ライオン(株)	福島 明*2	研究開発本部 企画管理部

\*1: 2012年12月末まで \*2: 2013年2月末まで

■ LRI 事務局

熊本 正俊、大島 健幸、味方 和樹、一鬼 勉、築瀬 互一、黛 芳美

## (6) 国際的な協調

LRI は国際化学工業協会協議会(ICCA: International Council of Chemical Associations)加盟国のうち日米欧の3つの工業協会が協力してとり進めています。ICCA LRI には下記2つの機関を設置して、日米欧の三極で推進する体制を整えています。

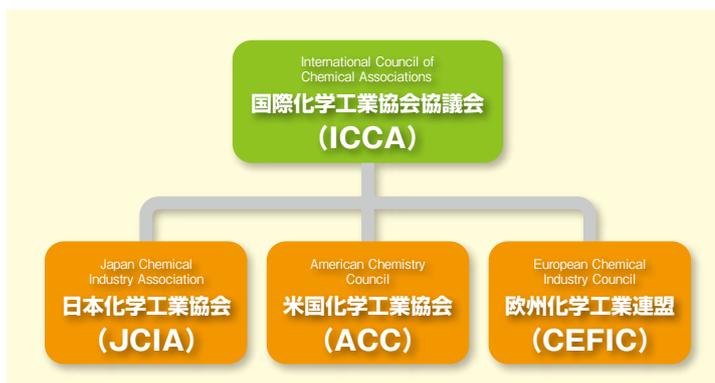
### ● Steering Committee :

日米欧の3協会2名ずつのメンバー(主要企業CEO)から成る基本的な政策と方針の最高決定機関(年1回開催)

### ● Planning Group :

各協会3名ずつのメンバーから成る全体企画・調整部門 Planning Group では年2回の定例会議のほか随時電話会議を開催し、企画・調整の推進に努めています。

このほか、ICCA-LRI ワークショップや Cefic ワークショップが毎年開催され、国際的な最新研究動向に関する情報交換や討論が活発に行われています。



## ● 各LRI 連絡先

日本	
熊本 正俊 [一般社団法人 日本化学工業協会 LRI マネージャー]	
mail address	mkumamoto@jcia-net.or.jp
日化協 LRI web site	http://www.j-lri.org/
米国	
Brenda E. Barry : Senior Director, Long range Research Initiative Team	
mail address	Brenda_barry@americanchemistry.com
ACC LRI web site	http://www.uslri.com/
欧州	
Gernot Klotz : Executive Director Research and Innovation	
mail address	gkl@cefic.be
CEFIC LRI web site	http://www.cefic-lri.org/

## (7)2012年新LRI第1期の委託研究課題

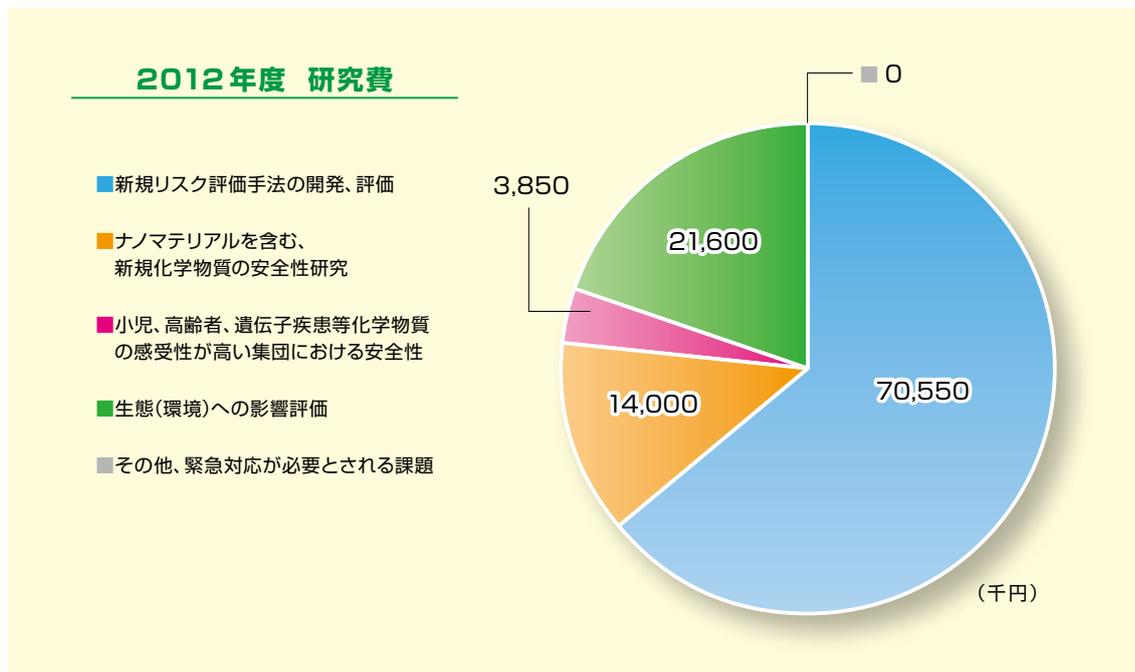
新LRI第1期の2012年度は、以下の研究分野において、指定課題5題および公募採択課題9題(総額1億1000万円)の研究委託をしています。

指定課題：5件

	新LRI取り組むべき研究分野	課題番号	研究課題	氏名	所属
1	新規リスク評価手法の開発、評価 ・簡便な曝露評価手法 ・動物実験代替試験法 (含 in vitro, in silico)	2012 S1-01	事業者の自主管理に資する確率論を援用した ヒト曝露評価モデルの開発	東海 明宏	大阪大学大学院 工学研究科
		2012 S1-02	ヒト肝キメラマウスを利用した化学物質の 精緻なPBPKモデルの構築	山崎 浩史	昭和薬科大学 薬物動態学研究室
		2012 S1-03	化学物質の呼吸器感受性試験法の確立	青山 公治	鹿児島大学大学院 歯学総合研究科
2	ナノマテリアルを含む、 新規化学物質の安全性研究	2012 S2-01	ナノマテリアルの安全性予測に資する 物性・品質/体内動態/安全性の連関評価	吉岡 靖雄	大阪大学大学院 薬学研究科毒理学分野
3	小児、高齢者、遺伝子疾患等化学物質 の感受性が高い集団における安全性	—	—	—	—
4	生態(環境)への影響評価	2012 S4-01	化学物質の環境中挙動(水中光分解、加水分解) に関する in silico 予測モデルの開発	高木 達也	大阪大学大学院 薬学研究科
5	その他、緊急対応が必要とされる課題	—	—	—	—

公募課題：9件

新LRI取り組むべき研究分野	課題番号	研究課題	氏名	所属
1 新規リスク評価手法の開発、評価 ・簡便な曝露評価手法 ・動物実験代替試験法 (含 in vitro, in silico)	2012 PT1-01	ターゲット検出法の改良による注意能力の多機能試験法の開発と発達神経毒性への応用 － 選択的注意、持続的注意、移動的注意、及び分割的注意の試験法	和田 博美	北海道大学大学院 文学研究科
	2012 PT1-02	事業者の自主的リスク評価管理を支援する環境リスク評価ツールの開発	林 彬勲	独立行政法人 産業技術総合研究所 安全科学研究部門
	2012 PT1-03	遺伝子改変ES細胞を用いた化学物質の毒性に関する評価手法の開発	森田 隆	大阪市立大学大学院 医学研究科遺伝子制御学
	2012 PT1-04	がん化初期段階における「代謝再プログラム化」過程を可視化できるマウスの開発と発がん性試験への応用	田沼 延公	地方独立行政法人 宮城県立病院機構 宮城県がんセンター研究所
	2012 PT1-05	メタボリックプロファイリングによる化学物質の内分泌かく乱作用 in vitro 評価系の開発	馬場 健史	国立大学法人 大阪大学大学院工学研究科 生命先端工学専攻
	2012 PT1-06	Active QSAR モデリングによるハザード予測の精緻化	高橋 由雅	豊橋技術科学大学 大学院工学研究科 情報・知能工学系
2 ナノマテリアルを含む、 新規化学物質の安全性研究	—	—	—	—
3 小児、高齢者、遺伝子疾患等化学物質 の感受性が高い集団における安全性	2012 PT3-01	セリンプロテアーゼインヒビター欠損細胞を用いた化学物質過敏症の高感度 in vitro 評価系の開発 － 呼吸器アレルギー検出のための細胞を用いた in vitro 系の検討	中村 晃	金沢医科大学 医学部 免疫学講座
4 生態(環境)への影響評価	2012 PT4-01	PRTR登録化学物質の包括的リスク評価手法の提案	中田 典秀	京都大学大学院 工学研究科附属 流域圏総合環境質研究センター
	2012 PT4-02	マイクロコズムを活用した化学物質の生態系リスク影響評価システム手法の開発	稲森 悠平	福島大学 共生システム理工学類
5 その他、緊急対応が必要とされる課題	—	—	—	—



## 2. 研究概要と成果 (第12期: 2011年9月~2012年8月)

## (1) 分野共通課題

## ● 化学物質管理に関わる世界的動向のレビュー

「予防的取組方法に留意しつつ透明性のある科学的根拠に基づくリスク評価手順とリスク管理手順を用いて、化学物質がヒトの健康と環境にもたらす著しい悪影響を最小化する方法で使用、生産されることを2020年までに達成する」という、国際的化学品管理に関する戦略的アプローチ (Strategic Approach to International Chemical Management, SAICM) に掲げられた目標を達成するため、欧州ではREACH制度の導入、米国ではTSCAの見直し、および日本では化審法の改正等、化学物質の適正管理に向け、国際的な取り組みがなされています。

日本化学工業協会LRI研究は開始から10年が経過し、従来の研究分野や研究への取り組み方・進め方を見直し、化学物質管理に関して今後必要となるであろう研究領域や評価手法を知り、将来の動向を予測して研究支援を行っていく新たな取り組みを展開することが、これからの日化協に対しての社会や日化協会員からの要望である、との認識に立って、「化学物質のヒトにおける毒性を予測する新技術の研究・開発の国際的な状況を把握すること」を目的として本課題を採択し、報告を得ました。

具体的には、動物実験への依存度を大幅に軽減する毒性予測法の開発として、遺伝子解析技術、メタボロミクス技術、ES細胞、iPS細胞等の最新の技術を用いた*in vitro*試験法やQSAR等の新たな毒性予測法の開発研究が米国、欧州において精力的に進められている現状が紹介されたと共に、わが国での官民の取り組みの遅れが指摘されています。また、日化協LRIに対しては、新規毒性予測法の開発と化学物質の有害性評価とリスク評価への適用の推進に関する国際的な状況に対する国内研究者の認識を高め、国際的な連携に繋がる研究を助成する仕組みとして非常に重要な役割を担っている、との期待が述べられています。

新LRIにおける研究推進分野や推進体制を構築する上で、大いに参考とさせて頂きました。

有限会社 イカルス・ジャパン

武居 綾子

## (2) 生態(環境)毒性分野

## ● 影響評価試験法の開発 (OECD試験法開発への協力等)

OECDでは、化学物質の安全性に関わる様々な試験法ガイドラインの整備を進めてきており、現在、環境中の生物への影響評価のための試験法ガイドラインを多数提案しています。しかしながら、既存の試験法では現実の生態系において重要な要素である生態的・地理的条件が無視され、単純化した条件下で実施されており、試験条件 (供試生物の生態影響評価指標生物としての妥当性を含め) について大きな議論の余地があります。日本化学工業協会は、試験法開発やその試験法が国際的に妥当なものとして認められるに足る検証活動、試験結果から得られる情報を評価する際に有用な知見の充実に協力しています。

第11期に引き続き、ミジンコの性を決定する遺伝子の探索やホルモンによる体の制御の仕組みを解明する研究を行っています (井口グループ)。これまでに、DSX1遺伝子がオオミジンコにおけるオスの性決定遺伝子であることをつきとめました。本年の研究では、幼若ホルモン類似物質はオオミジンコに雄を産仔させることから、オオミジンコの内分泌系を明らかにすることを目的に研究を行ったところ、ミジンコおよびオオミジンコには、昆虫類の幼若ホルモンと脱皮ホルモン合成・分解経路に関わる遺伝子群の大部分が保存されていることを見出しました。

魚類を用いるグループでは、養殖マダイにおける形態異常とその発生メカニズムに関する研究を行っています (澤田グループ)。人間活動で排出される化学物質以外の要因で魚類の個体群変動を誘導する形態異常の発生が予想されたおり、これまでに低O<sub>2</sub>あるいは高CO<sub>2</sub>環境下においてマダイ胚に形態異常が発生することをつきとめました。本年は形態形成で重要な働きを行うHIF遺伝子の発現に着目し研究を行ったところ、マダイ胚を低O<sub>2</sub>と高CO<sub>2</sub>環境にさらした際、HIF-1 $\alpha$ nの転写産物は低O<sub>2</sub>で減少、高CO<sub>2</sub>で増加することを発見し、これがマダイ胚の形態異常発生の一因となっていることを明らかにしました。

大学共同利用機関 自然科学研究機構

井口 泰泉 研究グループ

近畿大学 水産研究所 大島実験場

澤田 好史 研究グループ

## ● 化学物質の生物に及ぼす影響を評価する際に基礎となる野生生物に関する研究：日本における野生生物の研究・調査 該当なし

● 環境影響評価試験法に関するレビュー

該当なし

(3) 神経毒性分野

● 中枢神経系の発達に及ぼす化学物質の影響に関する試験法についての研究

最近、子どもの心や健康へ関心が高まっており、化学物質がヒトの発達時期の脳神経系に影響を及ぼしていることが懸念されています。この発達神経毒性については既に米国EPAやOECDで試験ガイドラインが存在し、試験が実施されていますが、時間的・経済的な負担が大きく、また多数の実験動物を用いることから検討の余地があります。また、行動検査を含めて現状の検査項目が、ヒトの毒性影響を検出・評価する方法として適当かつ十分なものであるかについて議論の余地もあります。日本化学工業協会は、試験法の改良のみならず、新たな試験法の確立のための研究を支援しています。

最近、ヒトのES細胞（胚性幹細胞）を用いた各種研究が進められていますが、それらを用いると種差による違いを考慮する必要がないので、毒性分野での応用が期待されています。神経細胞に分化するヒトES細胞を用いた発達神経毒性のスクリーニング法開発に第12期も引き続き支援を行いました。ハイスループット性を意識し、神経分化とともに蛍光を発するES細胞の開発を試み、まず、マウスのES細胞において有効な細胞株を開発しました。ヒトのES細胞についても研究を進めています（大迫グループ）。

培養した神経細胞において化学物質の影響を評価する方法として、神経細胞の生死の他、神経軸索の伸張やシナプス数等の形態的な変化を検討するのが一般的ですが、脳の神経細胞は、複雑なネットワークを形成して活動しており、その機能的な変化を捉えることも重要と考えられています。神経細胞の成長に伴い、自発的な細胞内のカルシウムの濃度振動が生じることが知られており、それを利用した評価系の開発に取り組みました（沼川グループ）。

最近、注意力や集中力に問題がある、いわゆる注意欠陥多動性障害（ADHD）をもつ子どもが増加しているとの報告があり、その要因のひとつに化学物質の暴露が挙げられています。この障害を適切に評価できる動物を用いた試験系はまだ開発されていません。そこで、オペラント箱のレバーを挿入・格納できるような工夫をした装置を用い、ランプの点灯とレバー押しによる餌獲得の関係を理解したラットに、その条件を変更した際の行動を評価することにより、行動を評価できる試験方法の開発に12期も継続して支援しました。今期は、甲状腺ホルモンの合成を阻害したラットを用いて検討し、ADHDの患者と同様に注意を移動することが困難になることを確認し、動物試験系として有用であることが明らかになりました（和田グループ）。

東京大学大学院医学系研究科	大迫 誠一郎 研究グループ
独立行政法人 国立精神・神経医療研究センター	沼川 忠広 研究グループ
北海道大学大学院文学研究科	和田 博美 研究グループ

● スクリーニング試験法の開発に役立つ基礎研究、スクリーニング試験法の開発

多くの化学物質の詳細な評価に先行して、事前に、信頼性や再現性があり、感度が高く、迅速で経済的な「スクリーニング試験」を行うことは有用です。LRI研究では中枢神経系の発達に及ぼす化学物質の影響を評価するスクリーニング試験法やこの試験法確立に役立つ研究を行っています。

第12期も継続して、ゼブラフィッシュを用いた発達神経毒性のスクリーニング試験法の開発に取り組みました。ゼブラフィッシュの神経系を可視化する蛍光色素を開発し、トランスジェニック技術を用いた*in vivo*イメージングによる形態評価と、ビデオトラッキングシステムを用いたゼブラフィッシュの行動解析法を確立するに至りました。これらの評価法は、96 well プレートを用いて実施するため、多くの検体を高速かつ定量的に解析することが可能であり、多数の化学物質の評価や、化学物質の発達神経毒性の用量相関性の解析が容易に実施できることが期待されます（西村グループ）。

発達時期の脳への化学物質の影響について、神経細胞を用いた*in vitro*の試験系の開発が多く進められていますが、第12期ではアストロサイトをを用いた*in vitro*試験系の開発に取り組みました。アストロサイトは、脳を構成する細胞の中で最も数が多く、代謝的に神経細胞を補完するとともに、多様な生理活性因子を分泌することが知られており、最近その役割が注目されています。神経毒性作用を有するトリブチルスズを適用して検討した結果、アストロサイトを主体とする神経細胞培養系では、神経細胞もしくはアストロサイトの単独の培養系よりも感度良く毒性影響を捕らえることができました（田代グループ）。

三重大学大学院医学系研究科	西村 有平 研究グループ
青山学院大学理工学部 化学・生命科学科	田代 朋子 研究グループ

## (4) 発がん分野

### ● 非遺伝毒性発がん物質の発がん性予測法の開発

発がん物質には、DNAや染色体に直接作用し遺伝子に傷をつけることによって発がん性を示す物質（遺伝毒性発がん物質）と、DNAや染色体に直接作用しないで発がん性を示す物質（非遺伝毒性発がん物質）の2種類があります。前者は広く用いられている細菌の突然変異を指標としたエームス試験や染色体異常試験などで比較的容易に検出することができますが、後者には簡易な検出法が少ないのが現状です。発がん分野では、この「非遺伝毒性発がん物質の簡便な検出方法の開発」を重要な課題と考えています。そこで、第12期では「初代培養細胞の*in vitro*発がん再構成系」を用いた化合物発がん性予測法の開発という研究テーマにて検討を行い（筆宝グループ）、ある種のがん関連遺伝子を人為的に抑制した細胞を用いて、細胞の分化能（spheroid形成能）の有無を確認することで、極めて早期に発がん性の予測が可能となることが示唆され、今後の研究の進展が期待されます。

一方、コンピューターを用いた発がん性予測システム（*in silico*による発がん予測システム）は盛んに研究され様々な場面で活用されつつあるものの、その予測性は完璧ではありません。昨年度より継続して採択している情報化学的手法を用いた有機化合物の発がん性予測に関する研究（荒川グループ）では、昨年までに有機化合物の変異原性を*in silico*で予測出来る統計モデルを構築し、予測正解率は79.60%という成果を得ており、本年度はさらに予測性の検証を行いました。その結果、予測システムの結果解析により、変異原性データ自体に誤りがある可能性が推察された6化合物について再度変異原性試験を実施した結果、3化合物に誤りが発見され、80%を超える予測正解率となりました。これは、従来手法による予測結果に比べて優れた結果であり、今後の応用展開が期待されます。

宇部工業高等専門学校経営情報学科

荒川 正幹 研究グループ

独立行政法人 国立がん研究センター研究所

筆宝 義隆 研究グループ

### ● 化学物質の発がん性のリスク評価に寄与しうる、細胞のがん化メカニズムに関する研究

細胞のがん化メカニズムは完全に把握されているとは言えません。現在わかっていないメカニズムを研究し、そのメカニズムに化学物質がどのように関与するのかを理解することは、前項の「非遺伝毒性発がん物質の検出法の開発」を行う上で、重要な基礎情報の集積に繋がります。このような、発がんメカニズムに関する基礎的研究も、発がん分野の重要な課題の一つと考えています。今年度は発がんメカニズムについて、『異数体化を抑制している新規細胞死誘導経路の破綻によるがん化のメカニズム』（井上グループ）、『発がん過程における「ワールブルグ効果に関連したスプライシング異常」-新規発がん性予測システムの開発』（田沼グループ）および『「がん化におけるレトロトランスポジションの役割と機序」に関する研究』（石坂グループ）の3テーマについて研究助成を行いました。井上グループの研究では、細胞分裂の際の紡錘体チェックポイント（SAC）からのアポトーシス誘導死までの経路に発がんの新たな経路を検証し、これまでに誘導死不全に関わる分子を見出してあります。また、田沼グループの研究では、発がん過程でのワールブルグ効果に関連するスプライシング異常に着目した研究を行い、がん化の過程で解糖系酵素PKMのスプライシング異常が起きることに着目し、この変化を可視化したトランスジェニックマウスを開発することで、これまでとは全く視点の違う発がん評価系試験法の提案が期待されております。さらに、石坂グループでは動き回る遺伝子（レトロトランスポゾン）に着目した発がんメカニズム研究を実施しており、各種発がん物質でLINEという遺伝子のレトロトランスポゾンの発生頻度が増加していることを確認しており、これまでに知られていない発がんの新しいメカニズムを解明する可能性が期待されております。

一方、発がん分野では、今後開発が期待される新素材についてもその発がん性への影響については重要な課題と考えております。繊維状無機物質の発がん評価法の開発を目指した研究（豊國グループ）では、電池をはじめとする工業製品への応用が期待されている多層カーボンナノチューブ（MWCNT）での中皮腫を起こす可能性について検証を行い、ラットへ高濃度のMWCNTを腹腔内投与すると悪性中皮腫が発生することをこれまでに明らかにしてきました。本年度は、ラット腹腔内投与によりMWCNTの形状と中皮腫発生について検討した結果、中皮腫の発生にはMWCNTの直径と関連があり、細くかつ直線性の高い繊維が中皮腫の発生に影響を与えることを明らかにしました。今後、実際の曝露を想定したリスク評価への展開が期待されます。

名古屋大学大学院医学系研究科

豊國 伸哉 研究グループ

鳥取大学医学部生命科学科 分子細胞生物学講座

井上 敏昭 研究グループ

宮城県立がんセンター研究所 薬物療法学部

田沼 延公 研究グループ

国立国際医療研究センター 難治性疾患研究部

石坂 幸人 研究グループ

### ● 遺伝毒性発がん物質の閾値に関する分子生物学的研究

体内に入った化学物質は、入った量に応じていろいろな影響をおよぼします。ある量以下で全く影響がみられなくなった場合、その量を「閾（しきい）値」と呼びます。発がん物質については、閾値があるかどうかについては議論が分かれています。このテーマでは、閾値の存在を多角的に解析する研究や遺伝毒性発がん物質の閾値に関する理解を深める研究を期待しています。今年度はDNA修復遺伝子欠損マウスES細胞を用いた閾値に関する研究（森田グループ）に研究助成をいたしました。森田グループらは、低濃度の化学物質を投与したときに、DNA修復遺伝子の欠損により細胞毒性がどのように反映されるか検討し、その結果、発がん物質の閾値がDNA修復遺伝子により変化することを明らかにしました。今後の研究の進展で遺伝毒性の閾値存在を明らかにすることが期待されています。

大阪市立大学大学院医学研究科 遺伝子制御学

森田 隆 研究グループ

### <分野共通課題として採択>

### ● 有害性評価手法の開発及びリスク評価の基盤となる毒性発現メカニズム研究

近年のゲノム技術やタンパク質の構造・機能研究の発達など分子生物学の発展により、遺伝子、RNA、タンパク、細胞内代謝物など生命情報を用いた解析手法（Omics）や、ES細胞あるいはiPS細胞などを用いた評価法が積極的に開発されており、これらの手法より得られる情報は毒性発現メカニズムの解明、種差の解明および新たな試験法開発に有用なものとなることが期待されています。本年度、共通分野では新たな有害性評価法の開発として野田グループの『全身の組織・細胞を標的として、*in situ*で突然変異細胞を検出することができる遺伝子改変マウスの開発』について研究助成を行い、最新の遺伝子工学技術を用いて、突然変異が起こると生きたまま細胞が発光するトランスジェニックマウスの開発を行いました。その結果、人為的に導入した遺伝子の一部が欠損するとその細胞が発光するマウスの作出に成功し、現在、遺伝子の一塩基の変異にも反応するマウスの作成を計画しており、研究の成果は今後の発がん性評価に大きく貢献するものと期待されています。

公益財団法人 放射線影響研究所 遺伝学部細胞遺伝学研究室

野田 朝男 研究グループ

### ● 新規材料のリスク評価の基盤となる、毒性発現メカニズム研究及び動態研究

近年、様々な製品にナノマテリアルが多用され、ナノマテリアルのヒトへの健康影響に高い関心が集まっており、ナノマテリアルのリスク評価の基盤となる毒性発現のメカニズムを解析することは非常に有用であります。

本年度は戸塚グループの『ナノマテリアルの物理化学的性状の違いによる遺伝毒性への影響と遺伝毒性メカニズムの解析』について研究助成を行いました。戸塚グループでは、DNA付加体を網羅的に解析する方法（アダクトーム法）を用いて、マグネタイトのマウス肺へのDNA損傷能について解析し、その結果、酸化反応や炎症反応により生成されるDNA付加体が肺で生成されることがわかりました。また、形状や表面構造が異なる同種異型のカオリンに注目し、これらの違いが遺伝毒性に及ぼす影響についても検討し、その結果、物理化学的性質（表面構造やゼータ電位等）の異なる2種のカオリンはマウス肺に対してDNA損傷性が異なり、この違いはマクロファージへの取り込み易さに起因することが示唆されました。今後の研究の進捗により、ナノマテリアルに関する毒性メカニズムの解明が期待されます。

独立行政法人 国立がん研究センター研究所

戸塚 ゆ加里 研究グループ

## (5) 免疫毒性(過敏症)分野

### ● 化学物質の免疫毒性(過敏症)を適切に評価する試験法の開発研究

化学物質の接触過敏症を検出する動物を用いた試験法は、いくつかの方法が開発され実際に評価に用いられています。しかしながら、動物愛護の観点から、さらなる動物を用いない代替法への転換が世界的に強く要請されています。そこで、LRI免疫毒性(過敏症)分野では、動物実験代替法の開発につながる研究を進めています。化学物質が生体においてアレルギー物質として認識される過程において、種々の免疫細胞は化学物質と接触したときに変化を起こします。その情報を次々と別の細胞あるいは組織に伝えることで免疫系が活性化し、異物であると認識される過程が生体にとって鍵になります。化学物質が生体において異物として認識されるメカニズムを研究することで、これらの変化をとらえる新しい評価指標(バイオマーカー)を見だし、アレルギー発症のメカニズムを考慮したあらたな試験法の提案につながることを期待されます。

岡山大学大学院医歯薬学総合研究科

田中 智之 研究グループ

北里大学医学部微生物学単位

玉内 秀一 研究グループ

### ● 免疫メカニズムに及ぼす化学物質の影響とその作用機序に関する研究

アレルギーは免疫系の過剰応答が引き起こす疾患であり、化学物質が免疫系に及ぼす影響についてこれまで種々の検討がなされてきました。基本的にはTh1 / Th2細胞のバランスがTh2型になることで説明されますが、それ以外のTh17細胞の作用やTh2型における各種の免疫細胞の役割についても研究が進んでいます。好酸球やマスト細胞などの活性化に関わる蛋白質として、各種サイトカインやプロテアーゼインヒビターの役割について新しい知見が蓄積されつつあります。また、免疫系は神経系などとも密接に関係しており、神経伝達物質を介した作用について新たな知見が得られています。新しい手法や発想でアレルギー発症メカニズムを解明していくことは、免疫系に及ぼす化学物質の影響を理解し対策を立てる上で貴重な手がかりになると考えられます。

金沢医科大学医学部免疫学部門

中村 晃 研究グループ

東京大学医科学研究所フロンティア研究拠点

中江 進 研究グループ

大阪大学大学院薬学研究科細胞生理学分野

辻川 和丈 研究グループ

### ● 免疫学的な機序の関与が不明な過敏症に関する研究

近年、微量の化学物質に反応し、非アレルギー性の過敏状態の発現により、精神的、身体的な症状を示すとされる病態(化学物質過敏症)の存在が指摘されています。この病態として診断される患者の中には、建材等に起因する室内空気中の化学物質に反応する患者がいる一方で、病気の発症に心理的、精神的関与が考えられる患者がいることも知られています。また、住宅において、カビの産生する有機化合物もこれらの病気の要因である可能性が指摘されています。さらに、近年、生体に取り込まれた粒子状化学物質の排除を担う免疫担当細胞が過剰反応や機能不全を起こす可能性を示唆する研究結果が発表されています。化学物質過敏症は未解明の部分が多い疾患で、現状では臨床検査方法及び診断基準が確立されていません。

免疫毒性(過敏症)分野では、化学物質過敏症がどのようなものに起因しているのか、さらには化学物質がどのように関係しているのかを理解するために役立つ研究を支援しています。

東北大学加齢医学研究所

中山 勝文 研究グループ

岐阜薬科大学機能分子学大講座

田中 宏幸 研究グループ

## (6) リスク評価の精緻化分野

### ● 総合的リスク評価手法の開発

化学物質管理は、従来のハザードベースからリスクベースへと大きく転換し、日本の改正化審法や改正化管法、REACHなど諸外国の化学品管理諸施策もリスクベース管理を基本にしたものになってきております。ICCAでは化学工業会の自主的なリスク管理としてGPS (Global Product Strategy) を展開しており、日化協もJIPS (Japan Initiative of Product Stewardship) として会員企業が化学物質のリスク評価を適切に行える環境の整備に取り組んでいます。LRIでは、リスクベースの化学物質管理社会を実現するため、日本の環境事情に適応し、ユーザーが容易に使用でき、かつ精度の高い新たなリスク評価ツールの開発が必要と考えております。

第12期は、事業者の自主的リスク評価・管理を支援する環境影響リスク評価ツールの開発を支援しております。水系に排出された化学物質の環境への影響について、初歩的なリスク評価から「種の感受性分布」や「個体群影響評価」などの高度なリスク評価まで、さらに化審法対応や管理対策など事業者の様々な局面に対応可能な、最新の環境リスク評価ツールになると期待しております。

独立行政法人 産業技術総合研究所 安全科学研究部門 林 彬勲 研究グループ

### ● 化学物質の総合的情報集約とその解析方法の開発

化学産業界は、広範にわたる多数の化学物質のリスクを2020年までに最小化することを目指して自主的活動を進めております。その実行のためには、従来の安全性試験で得られた既存のハザード情報を最大限活用し、リスク評価に向け精度高く解析できるかどうかがキーになります。さらに、リスクの予測をより効率的に実施するためには、化学物質の構造から毒性を予測するQSAR手法の確立も望まれます。LRIでは、適切なリスク評価を実現するためには、化学物質の毒性や物性に関する総合的情報集約ならびに高度なIT技術に基づく解析方法の開発 (QSARまたは*In silico*スクリーニング法等を含む) が不可欠と考えております。

第12期は、広範な化合物の毒性予測を行う新規システムの開発 (高木グループ) およびアクティブサンプリングに基づく毒性予測手法の開発 (高橋グループ) を支援しています。前者は、予測対象化学物質と構造が類似するサンプル群を集合の中から自動的に選び出し、予測対象化学物質毎に近傍空間における局所モデルを自動的に構築する手法です。化学物質群全体の傾向に左右されることなく局所で適切なモデルを作ることができるので、従来のQSAR法に比べて予測精度の飛躍的な向上が期待されます。後者は、多様な化学物質の情報を基に、構造等に基づくカテゴリー分類を行わずに毒性を予測する手法です。既存の情報に乏しいカテゴリーに分類されるような化学物質群の予測を行うことができれば、上記のカテゴリー分類を伴う手法との併用により、多岐にわたる化学物質の適正な評価につながることを期待されます。

豊橋技術科学大学大学院工学研究科 情報・知能工学系 高橋 由雅 研究グループ  
 大阪大学大学院薬学研究科 情報・計量薬学分野 高木 達也 研究グループ

### ● 化学物質の曝露・体内動態と生体応答を予測する手法の開発研究

リスク評価/管理を行う上で、曝露量の推定・把握は必須です。しかしながら、曝露量を実測することは経済的・技術的な負担が大きく、さらに複合曝露という現実が曝露評価を困難なものにしています。より精度の高いシミュレーションにより、作業員や消費者が、化学物質を取り扱うことによる直接的または環境を経由した間接的な曝露量が推定できる手法の確立が望まれています。東海グループは、日本の実情に合致した作業員及び消費者の曝露評価手法の開発を目指しており、これは企業の自主的なリスク管理において重要でありながら予測の難しい作業場での労働者曝露や使用製品からの消費者曝露の予測手法開発であり、その成果の企業への貢献は非常に大きいものと期待しております。

化学物質のヒトにおけるリスク予測・評価の基盤は動物試験であり、リスク評価研究に与えられた最大の科学的課題は、動物実験データからの外挿に基づきリスクを予測する場合の精度・信頼度をいかに向上させるかにあります。ここには、依然として吸収・排泄や代謝機構の相違などに規定される「種差の問題」の克服など様々な基本的問題が存在します。そこで、LRIでは、ヒトに対するリスク予測・評価手法として注目されつつある生理学的薬物動態モデル (PBPKモデル) の構築を支援することとしました。山崎グループはこれまでの研究により、ヒト血中濃度を予測する簡便なPBPKモデルを構築し、会員企業が利用可能な予測ツールのプロトタイプを完成しました。これまでの成果は、アクリロニトリ工業会の取り組みにも貢献しており、さらには米国EPAが進めるリスク評価のための体内動態モデルとして採択され、そのリスク評価ツールへの導入が検討されております。今後、さらに汎用性が高く精緻化されたモデル、ツール開発に向けて検討を進めており、今後は当該研究がこの分野の先導役となり、リ

スク評価の精緻化に資する国内の研究開発促進に貢献することを期待しております。

大阪大学大学院工学研究科 環境・エネルギー工学専攻 東海 明宏 研究グループ  
昭和薬科大学 薬物動態学研究室 山崎 浩史 研究グループ

#### <分野共通課題として採択>

##### ● 有害性評価手法の開発及びリスク評価の基盤となる毒性発現メカニズム研究

毒性発現メカニズムの解明は、対象となる化学物質のリスク評価に有用であるのみならず、将来の試験法の開発の基盤となります。また、試験法の改良においても、新たに解明された毒性発現メカニズムに関するパラメータが追加されることは意義があります。リスク評価では、得られたパラメータの変動が示す毒性学的意義の解釈は重要な情報となるばかりでなく、種差や個体差を考慮しつつリスク評価すべき対象となる生物種への外挿にも有用な情報を与えます。リスク評価の精緻化分野においては、リスク評価の基盤となる毒性発現メカニズムを解明する基礎的研究を支援しております。吉成グループは、化学物質による核内受容体シグナルへの影響に着目し、化学物質による核内受容体（CAR、PXR、PPAR $\alpha$ ）シグナルの発現を、炎症、脂質代謝、細胞周期、さらには齧歯類とヒトとの種差について解明することでヒトのハザード予測手法の開発を目指しています。第10、11期の研究でCAR及びPXRの毒性関連機能解析成果と活性化能評価系の確立など今後の基盤となる成果が得られており、今後の研究で、本解析法がヒトのリスク評価におけるハザード予測に有用な情報を提供する手法となることが期待されます。

東北大学大学院薬学研究科 薬物動態学分野 吉成 浩一 研究グループ

### 3. 外部発表

日化協 LRI で支援した研究成果は積極的に公表されることが期待され、掲載のための審査過程がある専門の科学雑誌に掲載されることが望まれています。また、積極的な学会発表も奨励しており、成果が公表されることを強く望んでおります。前年の Annual Report 発刊以降、2013 年 2 月までに発表された内容は以下のとおりです。

#### (1) 分野共通

##### ● 1. 発表論文

###### 1) 吉成浩一 研究グループ：東北大学大学院薬学研究科 薬物動態学分野

- ① Satoshi Benoki, **Kouichi Yoshinari**, Tsubasa Chikada, Jun Imai, Yasushi Yamazoe  
Transactivation of ABCG2 through a novel cis-element in the distal promoter by constitutive androstane receptor but not pregnane X receptor in human hepatocytes  
Archives of Biochemistry and Biophysics, 517, 123-130, 2012
- ② Jun Imai, Yasushi Yamazoe, **Kouichi Yoshinari**  
Novel cell-based reporter assay system using epitope-tagged protein for the identification of agonistic ligands of constitutive androstane receptor (CAR)  
Drug Metabolism and Pharmacokinetics, Dec 25, 2012 [Epub ahead of print]
- ③ **Kouichi Yoshinari**, Hitoshi Ohno, Satoshi Benoki, Yasushi Yamazoe  
Constitutive androstane receptor transactivates the hepatic expression of mouse Dhcr24 and human DHCR24 encoding a cholesterologenic enzyme 24-dehydrocholesterol reductase  
Toxicology Letters, 208:185-190, 2012

###### 2) 戸塚ゆ加里 研究グループ：国立がんセンター研究所

- Tatsuya Kato, **Yukari Totsuka**, Kousuke Ishino, Yoko Matsumoto, Yukie Tada, Dai Nakae, Sumio Goto, Shuichi Masuda, Sayaka Ogo, Masanobu Kawanishi, Takashi Yagi, Tomonari Matsuda, Masatoshi Watanabe, Keiji Wakabayashi  
Genotoxicity of multi-walled carbon nanotubes in both *in vitro* and *in vivo* assay systems  
Nanotoxicology, Apr 4, 2012 [Epub ahead of print]

###### 3) 野田朝男 研究グループ：放射線影響研究所

- 野田朝男**、中村典  
「突然変異率の再考」  
放射線生物研究、47:1-7、2012

##### ● 2. 学会発表等

###### 1) 吉成浩一 研究グループ：東北大学大学院薬学研究科 薬物動態学分野

- ① 志津怜太、**吉成浩一**、辺野喜智、児玉進、山添康  
PXR activator enhances CAR-dependent hepatocyte proliferation in mice  
第 39 回日本毒性学会学術年会、仙台、2012 年 7 月
- ② 大塚祐多、**吉成浩一**、山添康  
「核内受容体 CAR は PPAR $\alpha$  依存的にケトン体合成経路の律速酵素である HMGCS2 の転写を抑制する」  
第 39 回日本毒性学会学術年会、仙台、2012 年 7 月
- ③ 辺野喜智、志津怜太、**吉成浩一**、児玉進、山添康  
「核内受容体 CAR の活性化が肝の細胞周期関連遺伝子の発現に与える影響」  
第 39 回日本毒性学会学術年会、仙台、2012 年 7 月

## 2) 武居綾子 研究グループ：有限会社 イカルス・ジャパン

## ① 武居綾子

「第 20 回 ILSI Japan 毒性学教育講座 特別講演」－リスク評価法と放射能問題－  
リスク評価への毒性情報活用ストラテジーの展望、2011 年 12 月 14 日

## ② 武居綾子

An Overview of the Ongoing Chemical Risk Assessment in the US and Europe  
The 41<sup>st</sup> Annual Meeting of the Japanese Environmental Mutagen Society, November 30, 2012, Shizuoka,  
Symposium: Future Directions and Challenges in Chemical Safety Assessment

## 3) 戸塚ゆ加里 研究グループ：国立がんセンター研究所

## ① Yukari Totsuka, Tatsuya Kato, Kousuke Ishino, Dai Nakae, Yukie Tada, Kenichi Oyama, Akio Ogata, Masanobu Kawanishi, Takashi Yagi, Masatoshi Watanabe, Keiji Wakabayashi, Hitoshi Nakagama

Genotoxicity induced by nanomaterials

41<sup>th</sup> European Environmental Mutagen Society Annual Meeting, Barcelona, SPAIN, 4-7, July, 2011

## ② 戸塚ゆ加里

ナノマテリアルにより誘発される遺伝毒性

レドックスシンポジウム、東京、2011 年 3 月

## ③ Kousuke Ishino, Yukari Totsuka, Tatsuya Kato, Hitoshi Nakagama

A comprehensive analysis of DNA adducts in mice exposed to nanomaterials

70<sup>th</sup> Annual Meeting of the Japanese Cancer Association, Nagoya, October, 2011

## ④ Tatsuya Kato, Yukari Totsuka, Kousuke Ishino, Masatoshi Watanabe, Keiji Wakabayashi, Hitoshi Nakagama

Differences in DNA damaging potency of differently-originated kaolins

日本癌学会第 70 回大会、名古屋、2011 年 10 月

## ⑤ Tatsuya Kato, Kousuke Ishino, Tatsushi Toyooka, Yuko Ibuki, Masatoshi Watanabe, Keiji Wakabayashi, Shuichi Masuda, Yukari Totsuka, Hitoshi Nakagama

Differences in DNA damaging potency and incorporation rate into cultured mammalian cells of differently-originated kaolins

日本環境変異原学会第 40 回大会、東京、2011 年 11 月

## ⑥ Kousuke Ishino, Tatsuya Kato, Tomonari Matsuda, Yukari Totsuka, Hitoshi Nakagama

A comprehensive analysis of DNA adducts in lungs of mice exposed to nanomaterials using nanoLC-QTof MS

日本環境変異原学会第 40 回大会、東京、2011 年 11 月

## 4) 野田朝男 研究グループ：放射線影響研究所

## ① Noda A.

Development of recombinant mouse model for the study of genetic effects of radiation. Radiation Effects Research Foundation, International Workshop

Radiation Effects on Mutation in Somatic and Germline Stem Cells, Hiroshima, January, 18-19, 2012

## ② Noda A., Suemori H., Hirai Y., Hamasaki K., Kodama Y., and Nakamura N.

HPRTdup-GFP mice: a new knock-in mouse system for the *in vivo* visualization of somatic and germ cell mutants.

The 43<sup>rd</sup> annual meeting of Environmental Mutagen Society, Bellevue, Washington, September, 8-12, 2012

## (2) 生態（環境）毒性分野

### ● 1. 発表論文

#### 1) 澤田好史 研究グループ：近畿大学水産研究所 大島実験場

**Yoshifumi Sawada**, Kazuhiro Higuchi, Tomoki Honryo, Yasuo Agawa, Hirokazu Shiba, Tatsuo Yokoyama and Hidemi Kumai

Estimated time change of dissolved oxygen and carbon dioxide concentration in the egg aggregation of red sea bream, *Pagrus major*., Aquaculture, 350-353, 33-36

### ● 2. 学会発表等

#### 1) 井口泰泉 研究グループ：大学共同利用機関 自然科学研究機構 岡崎統合バイオサイエンスセンター

① Toyota K., Miyakawa H., Oda S., Miyagawa S., Ogino Y., Tatarazako N., Kato Y., **Iguchi T.**

Gene expression analysis of juvenile hormone-responsive genes during critical period for sex determination in *Daphnia magna*

Joint Meeting of The 59<sup>th</sup> Annual Meeting of ESJ and The 5<sup>th</sup> EAFES International Congress, Ryukoku University, Otsu, March 17-21, 2012

② **Taisen Iguchi**

Environmental endocrine disruptor molecular screening and the use of *in vitro* assays and toxicogenomics in fish, amphibians and *daphnia*

Special Symposium on Environmental Genomics 2012, in Shanghai, Shanghai, China, March 26-28, 2012

③ 角谷絵里、荻野由紀子、宮川信一、宮川一志、豊田賢治、**井口泰泉**

「オミジンコ脱皮ホルモン合成経路遺伝子の発現変動」

第 83 回日本動物学会、大阪大学、2012 年 9 月 13 日 - 15 日

④ **井口泰泉**、豊田賢治、角谷絵里、宮川一志、蛭田千鶴江、宮川信一

「脊椎動物から無脊椎動物の内分かく乱：オオミジンコの性分化遺伝子の解明」

第 37 回日本比較内分泌学会 シンポジウム、福井大学、2012 年 11 月 29 日 - 12 月 1 日

#### 2) 澤田好史 研究グループ：近畿大学水産研究所 大島実験場

① **Yoshifumi Sawada**, Yasuo Agawa, and Tomoki Honryo

GENE EXPRESSION OF HIPOXIA INDUCIBLE FACTOR-1 ALPHA IN THE RED SEA BREEM, *Pagrus major*, EMBRYOS EXPOSED TO HYPOXIA AND HYPRECAPNIA DURING SOMITOGENESIS  
AQUA, 2012 Prague, Czech Republic, Sept, 2012

② **Yoshifumi Sawada**, Yasuo Agawa, and Tomoki Honryo

HIF-1 $\alpha$  gene expression in the embryo of red sea bream, *Pagrus major*, exposed to hypoxia and hypercapnia during somitogenetic stage

Third International Symposium on the Ocean in a High-CO<sub>2</sub> World Monterey, USA, Sept, 2012

## (3) 神経毒性分野

### ● 1. 発表論文

#### 1) 大迫誠一郎 研究グループ：東京大学大学院医学系研究科

He X., Imanishi S., Sone H., Nagano R., Qin X.-Y., Yoshinaga J., Akanuma H., Yamane J., Fujibuchi W., and **Ohsako S.**

Effects of methylmercury exposure on neuronal differentiation of mouse and human embryonic stem cells  
Toxicology Letters, 212, 1-10, 2012

#### 2) 沼川忠広 研究グループ：(独) 国立精神・医療研究センター 神経研究所

**Numakawa T.**, Yamamoto N., Chiba S., Richards M., Ooshima Y., Kishi S., Hashido K., Adachi N., Kunugi H.

Growth factors stimulate expression of neuronal and glial miR-132  
Neurosci Lett, Nov 21;505(3):242-7, 2011

3) 和田博美 研究グループ：北海道大学文学研究科

和田博美、瀬戸友紀奈

「周産期甲状腺ホルモン阻害による認知発達への影響 – 注意機能をめぐって」  
精神神経学雑誌、114 (8) :949-56、2012年

4) 西村有平 研究グループ：三重大学大学院医学研究科 薬理ゲノミクス分野

Watanabe K., Nishimura Y., et al.

*In vivo* assessment of the permeability of the blood-brain barrier and blood-retinal barrier to fluorescent indoline derivatives in zebrafish  
BMC Neuroscience, 13:101, 2012

● 2. 学会発表等

1) 大迫誠一郎 研究グループ：東京大学大学院医学系研究科

Seiichiroh Ohsako, Junko Yamane, Satoshi Imanishi, Chiharu Tohyama

Effects of Ahr agonist on neuronal cell differentiation from human ES cells

The 10<sup>th</sup> Annual Meeting of International Society for Stem Cell Research, Yokohama, Japan, June, 2012

2) 沼川忠広 研究グループ：(独) 国立精神・医療研究センター 神経研究所

① Noriko Yamamoto, Tadahiro Numakawa, Shuichi Chiba, Misty Richards, Yoshiko Ooshima, Soichiro Kishi, Kazuo Hashido, Naoki Adachi, and Hiroshi Kunugi

MicroRNA-132 induction following bFGF stimulation in glial and neural cultures

11<sup>th</sup> Biennial Meeting of the Asian-Pacific Society for Neurochemistry (APSN), Kobe, September 30 to October 2, 2012

② Tadahiro Numakawa, Naoki Adachi, Shuichi Chiba, Emi Kumamaru, Yoshiko Ooshima, Kazuo Hashido, and Hiroshi Kunugi

Possible mechanism underlying negative influence of glucocorticoids on BDNF-mediated neuronal function

11<sup>th</sup> Biennial Meeting of the Asian-Pacific Society for Neurochemistry (APSN), Kobe, September 30 to October 2, 2012

③ Yoshiko Ooshima, Tadahiro Numakawa, Shuichi Chiba, Miyako Furuta, Naoki Adachi, and Hiroshi Kunugi

Intrauterine growth retardation neurons show a reduction in BDNF-mediated neuronal function

11<sup>th</sup> Biennial Meeting of the Asian-Pacific Society for Neurochemistry (APSN), Kobe, September 30 to October 2, 2012

3) 和田博美 研究グループ：北海道大学文学研究科

① 和田博美

「周産期甲状腺ホルモン阻害による認知発達への影響 – 注意機能をめぐって」

第 103 回精神神経学会学術総会シンポジウム・社会性に関わる脳機能の異常と環境因子との関連  
札幌、2012年5月

② Wada Hiromi

Effects of perinatal hypothyroidism on selective and sustained attention in rats

30<sup>th</sup> International Congress of Psychology Cape Town, South Africa, July 2012

③ 瀬戸友紀奈、和田博美

「甲状腺ホルモン阻害がラットの移動的注意に及ぼす影響」

日本動物心理学会 第 72 回大会、兵庫県西宮市、2012年5月

- ④ **Wada Hiromi** and Seto Yumina  
Effects of perinatal hypothyroidism on shift attention in rats  
Dioxin 2012, Cairns, Australia, August, 2012

- ⑤ 瀬戸友紀奈、和田博美  
「甲状腺ホルモン阻害がラットの分割的注意に及ぼす影響」  
日本心理学会 第76回大会、川崎市、2012年9月

- 4) 田代朋子 研究グループ：青山学院大学工学部 化学・生命科学科  
小柳洸志、田代寛典、根岸隆之、田代朋子  
「大脳皮質由来初代培養神経細胞のシナプス形成に対する低濃度トリプチルスズの抑制作用」  
第54回日本神経化学学会大会、山代温泉、2011年9月26日－28日

## (4) 発がん分野

### ● 1. 発表論文

- 1) 柿沼志津子 研究グループ：独立行政法人 放射線医学総合研究所  
**Shizuko Kakinuma**, Mayumi Nishimura, Yoshiko Amasaki, Mayumi Takada, Kazumi Yamauchi, Satomi Sudo, Yi Shang, Kazutaka Doi, Shinji Yoshinaga, Yoshiya Shimada  
Combined exposure to X-irradiation followed by N-ethyl-N-nitrosourea treatment alters the frequency and spectrum of Ikaros point mutations in murine T-cell lymphoma  
Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, Sep, 1;737(1-2):43-50, 2012
- 2) 荒川正幹 研究グループ：宇部工業高等専門学校経営情報学科  
荒川正幹、船津公人  
変異原性予測モデルの構築 – Ames 試験データの検証  
Journal of Computer Aided Chemistry, 13, 20-28, 2012
- 3) 石坂幸人 研究グループ：国立国際医療研究センター 難治性疾患研究部
- ① Okudaira N., Goto M., Abe Y., Tamura M., An Y., Kano S., **Ishizaka Y.**, Okamura T.  
Involvement of retrotransposition of long interspersed nucleotide element-1 in DMBA/TPA-induced skin carcinogenesis.  
Cancer Sci. 102 (11): 2000-2006, 2011
- ② **Ishizaka Y.**, Okudaira N., Okamura T.  
2012 Regulation of retrotransposition of long interspersed element-1 by mitogen-activated protein kinases  
pp 187-198. In Gabriela Da Silva Xavier (ed), Protein Kinases / Book 1, InTech - Open Access Publisher, Croatia. <http://www.intechopen.com/books/protein-kinases>
- ③ **Ishizaka Y.**, Okudaira N., Tamura M., Iijima K., Shimura M., Goto M., Okamura T.  
Modes of retrotransposition of long interspersed element-1 by environmental factors  
Front Microbiol. 3:191, 2012

### ● 2. 学会発表等

- 1) 井上敏昭 研究グループ：鳥取大学医学部生命科学科
- ① 李艶沢、末松知久、中山祐二、押村光雄、井上敏昭  
がん治療の新たな標的分子としての SIRT2  
第34回日本分子生物学会年会、パシフィコ横浜、2011年12月13－16日

## ②末松知久、李艶澤、中山祐二、押村光雄、井上敏昭

「分裂期での SIRT2 脱アセチル化標的タンパクの探索」

第 35 回日本分子生物学会年会、福岡、2012 年 12 月

## ③末松知久、李艶澤、中山祐二、押村光雄、井上敏昭

分裂期での SIRT2 脱アセチル化標的タンパクの探索

第 35 回日本分子生物学会年会、福岡国際会議場・マリンメッセ福岡、2012 年 12 月 11 - 14 日

## 2) 荒川正幹 研究グループ：宇部工業高等専門学校経営情報学科

## ①荒川正幹、船津公人

有機化合物の変異原性予測モデルの構築

第 34 回情報化学討論会、長崎、2011 年 11 月 12 - 13 日

## ②荒川正幹、船津公人

情報化学的手法を用いた変異原性予測

第 35 回情報化学討論会、広島、2012 年 10 月 4 - 5 日

## 3) 石坂幸人 研究グループ：国立国際医療研究センター 難治性疾患研究部

## ①石坂幸人、奥平准之

Long interspersed element-1 is differentially regulated by environmental carcinogens via the aryl hydrocarbon receptor

第 71 回日本癌学会年会、札幌、2012 年 9 月

## ②奥平准之、石坂幸人

Involvement of retrotransposition of long interspersed element 1 in DMBA/TPA induced skin tumorigenesis

第 71 回日本癌学会年会、札幌、2012 年 9 月

## ③石坂幸人、岡村匡史、

レトロトランスポジションの制御異常によつて疾病の発症

第 36 回阿蘇シンポジウム、熊本、2012 年 8 月

## (5) 免疫毒性分野

## ● 1. 発表論文

## 1) 玉内秀一 研究グループ：北里大学医学部免疫学単位

Hidekazu Tamauchi, Yasuyuki Amoh, Mamoru Itoh, Masazumi Terashima, Mikio Masuzawa, Sonoko Habu, Kensei Katsuoka, Kazuya Iwabuchi

GATA-3 regulates contact hyperresponsiveness in a murine model of allergic dermatitis

Immunobiology, 217(4): 446-54, 2012

## 2) 田中智之 研究グループ：岡山大学大学院医歯薬学総合研究科

Takano H., Furuta K., Yamashita K., Sakanaka M., Itano N., Gohda E., Nakayama K., Kimata K., Sugimoto Y., Ichikawa A., and Tanaka S.

Restriction of mast cell proliferation through hyaluronan synthesis by co-cultured fibroblasts

Biol. Pharm. Bull. 35, 408-412, 2012

## ● 2. 学会発表等

## 1) 中山勝文 研究グループ：東北大学加齢医学研究所

Toshimasa Kusaka, Masafumi Nakayama, Kyohei Nakamura, Kouetsu Ogasawara

Effect of particle size of silica on macrophage inflammatory responses

Annual meeting of the Japanese Society for Immunology, Dec 5-7, 2012. Kobe

第 41 回日本免疫学会学術集会、神戸、2012 年 12 月

2) 辻川和丈 研究グループ：大阪大学大学院薬学研究科

- ①三上統久、渡辺桂子、橋本なぎさ、深田宗一郎、山元弘、**辻川和丈**  
神経ペプチド CGRP の cAMP / PKA 経路を介した Th17 細胞分化促進作用  
第 40 回日本免疫学会、千葉、2011 年 11 月
- ②宮城弥生、三上統久、末田佳織、深田宗一郎、山元弘、**辻川和丈**  
神経ペプチド CGRP の Th9 細胞分化促進作用  
第 40 回日本免疫学会、千葉、2011 年 11 月
- ③三上統久、深田宗一郎、山元弘、**辻川和丈**  
神経ペプチド CGRP の皮膚免疫制御作用  
日本薬学会第 132 年会、札幌、2012 年 9 月
- ④三上統久、深田宗一郎、山元弘、**辻川和丈**  
神経ペプチド CGRP の皮膚免疫制御作用  
第 39 回日本毒性学会学術集会、仙台、2012 年 7 月

**(6) リスク評価の精緻化**

● 1. 論文発表

山崎浩史 研究グループ：昭和薬科大学

Ryohji Takano, Hiroshi Yamazaki

Application of human PBPK modeling to risk assessment of chemicals

CICSJ Bulletin Vol.30 No.3, 2012 年

● 2. 学会発表等

1) 高橋由雅 研究グループ：豊橋技術科学大学

高橋由雅、大山美香

「アクティブサンプリングによる baseline 毒性の QSAR モデリング」

第 21 回環境科学討論会、松山、2012 年 7 月

2) 山崎浩史 研究グループ：昭和薬科大学

- ①國兼絵里子、村山典恵、塚田藍、高野良治、北島正人、清水万紀子、池田敏彦、**山崎浩史**  
「ヒト生理学的薬物動態 (PBPK) モデルの最適化のための肝可溶性画分の必要性の検証」  
第 55 回日本薬学会関東支部大会、千葉、2011 年 10 月
- ②塚田藍、山下真直、村山典恵、末水洋志、高野良治、清水万紀子、**山崎浩史**  
「肥育用ステロイドホルモン剤の肝代謝消失速度の種差」  
日本薬学会第 132 回年会、札幌、2012 年 3 月
- ③村山典恵、山下真直、塚田藍、末水洋志、中村雅登、高野良治、清水万紀子、**山崎浩史**  
「チオカルバメート系除草剤モリネートの代謝消失における種差の検討」  
日本薬学会第 132 回年会、札幌、2012 年 3 月
- ④清水万紀子、曾田重人、末水洋志、村山典恵、中村雅登、**山崎浩史**  
「ヒト肝移植マウスを用いたアセフェートの代謝消失」  
日本薬学会第 132 回年会、札幌、2012 年 3 月

3) 高木達也 研究グループ：大阪大学大学院薬学研究科

寺本泉瑠、宇根琢、岡本晃典、川下理日人、**高木達也**

「オープンアクセス可能な広範な化合物に対応する高等動物への毒性予測システムの検討」

第 40 回構造活性相関シンポジウム、愛知、2012 年 11 月

## 4. 研究報告会

これまでは、委託研究で得られた成果をわかりやすく皆様にご紹介する場として、講演を中心とした研究報告会を年に一度開催してまいりました。

今年度は、新LRIで初の試みとして、

- ①より多くの研究者による成果発表会とすること、研究者と聴衆とのコミュニケーション強化を図ることを目的として、採択研究者によるポスターセッション形式の発表の場と、
- ②ナノマテリアルのリスク評価に関する各方面の専門家を招いて、今後の課題について意見交換を行うシンポジウム、を企画しました。

理化学研究所 永樂 元次先生による、「ヒト組織を活用した化学品安全評価の精緻化」と題した、ES細胞を活用したヒト組織構築技術の現状と将来展望についての特別講演とともに、参加者から非常に好評を得た「第1回 新LRI研究報告会」となりました。

## 第1回 一般社団法人 日本化学工業協会 新LRI研究報告会プログラム

日時：2012年8月31日(金) 10:00～17:00(開場 9:30)

場所：ベルサール八重洲 2階 RoomA～Cほか(東京都中央区八重洲1-3-7 八重洲ファーストフィナンシャルビル2F Tel: 03-3548-3770)

プログラム：

10:00-10:10	開会挨拶 西出 徹雄(一般社団法人 日本化学工業協会専務理事)	
10:10-10:40	新LRIについて 庄野 文章(一般社団法人 日本化学工業協会常務理事)	
10:40-10:50	新LRI運営委員会 挨拶 西澤 恵一郎(東ソー株式会社/LRI運営委員会委員)	
10:50-11:10	今年度の推進課題/募集課題について 味方 和樹(一般社団法人 日本化学工業協会LRI事務局)	
11:10-12:00	講演 「ヒト組織を活用した化学品安全評価の精緻化」－ES細胞を活用したヒト組織構築技術の現状と将来展望－ 永樂 元次(理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター 副ユニットリーダー)	
12:00-13:30	休憩(90分)	12:00-13:00 ポスター 展示完了
シンポジウム「ナノマテリアルリスク評価の今後の課題」 (14:30-17:00 / 2F Room A, B, C) 座長：福島 昭治(中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター所長(新LRI 顧問会議委員)) 司会：熊本 正俊(LRI事務局)		ポスターセッション (13:30-16:00 / Room E)
14:30-14:35	開会挨拶 福島 昭治(中央労働災害防止協会 日本バイオアッセイ研究センター所長)	13:30-14:30 コアタイム (発表者が待機しております)
14:35-14:50	ナノマテリアル分析機器開発の現状 田中 充((独)産業技術総合研究所 産総研フェロー(国際標準化担当))	
14:50-15:05	ナノマテリアル哺乳動物影響評価の現状 広瀬 明彦(国立医薬品食品衛生研究所 総合評価研究室長)	
15:05-15:20	ナノマテリアルハザード解析の現状 堤 康央(大阪大学大学院薬学研究科長)	
15:20-15:35	企業の取り組み ナノ酸化チタンの管理状況 奥田 雅朗(テイカ株式会社 環境品質管理部長)	
15:35-15:50	企業の取り組み ナノマテリアル分析機器開発の方向性 林 正秀(一般社団法人ナノテクノロジービジネス推進協議会 事務局長)	
15:50-16:05	行政の取り組み 及川 信一(経済産業省 製造産業局 化学物質リスク分析官)	
16:05-16:15	休憩(10分)	
16:15-17:00	討論	
17:00-17:05	閉会挨拶 庄野 文章(一般社団法人 日本化学工業協会 常務理事)	

## 5. 新LRIの今後

ご周知のとおり、LRIは、化学物質が人の健康や環境に及ぼす影響に関する研究を資金面から助成し、その研究成果を化学産業界が扱う様々な製品のリスク評価や管理あるいは安全性の確保に生かしていこうとする、化学産業界としての国際的な自主的、長期的な取り組みです。

LRIは1998年に国際化学工業協会協議会 (ICCA:International Council of Chemical Associations) の活動として始まり、日本では、当協会が2000年より開始致しました。日化協LRIは、事業開始後10年を機に、2011年9月16日の理事会にてその現状の課題と今後の方向性について報告し、2012年3月16日の理事会では、これまでの成果の内容、社会的認知度に関する疑問、化学品管理の国際動向や研究動向への対応の観点等について会員企業から寄せられた意見を背景として、本格的な見直しに着手することが承認されました。

以後、化学産業界に求められる社会的なニーズを考慮し、会員各社のニーズも反映させた研究方針・テーマ策定のための具体的検討と運営組織の見直しを進め、新LRIを発足させ、4研究領域において計14題の研究課題を新たに採択して2012年11月より委託研究を開始したところであります。

化学産業にとって、既存品のリスクに関する知見の整備、新たな事業展開のための新規製品開発に伴う安全性評価の実施はいまや不可欠となってきています。これらの評価結果を正しく理解し、適切な対応を行うことがサプライチェーンを含めたリスクを最小限にするための大前提となっています。半面、化学産業界は、人的資源、時間や費用等の資源面から、これらを個社で具体化していくことには限界があり、さらに、行政の研究成果は必ずしも現実的なニーズに沿ったものではない状況であることも事実であります。こういった観点から、化学産業界は、具体的に社会・産業界に役立つ研究、実証的データに基づく共通課題の解決を合理的に図り、政策や規制に対応することが求められており、本年度より上記テーマを選択し、新LRIを開始したところです。

国際的な化学品管理の流れはご承知のとおり、2002年ヨハネスブルグにおける持続可能な発展のための世界首脳会議で、「透明性のある科学に基づくリスク評価手続きとリスク管理手続きを用い、予防的アプローチを考慮して、健康および環境への悪影響を最小限にする方法で化学物質を製造し使用することを2020年までに達成することを目指す」ことが合意されました。これを具体化すべく「国際的な化学物質管理のための戦略的アプローチ (Strategic Approach to International Chemicals Management :SAICM)」が策定され、科学的手法・科学的知見に基づいたリスクアセスメント、リスクマネジメントの実施とサプライチェーン全体でのリスクの最小化という、化学物質の総合管理の実現に向けた世界レベルの本格的な取り組みが官・民・国際機関で進められております。

2012年9月にナイロビで開催されたSAICMの進捗状況をフォローアップするICCM-3では、「新規の課題 (emerging issue)」 ([1] ナノテクノロジー及び工業用ナノ材料、[2] 電気電子製品のライフサイクルにおける有害物質、[3] 製品中化学物質、[4] 塗料中鉛、及び [5] ペルフルオロ化合物 (PFC) の管理と安全な代替物質への移行) について、今後の活動に関する決議が行われました。また、内分泌かく乱物質を新たに「新規の課題」に追加することについて合意されました。

一方で化学物質のリスク管理は、国際的に制度面で普及が進み、ICCA等でも企業の自主的取り組みがGPS等を中心に進められつつあります。化学物質のリスクに関してはまさに科学的手法・知見に基づいた情報提供と共有が求められていく方向にあります。このような流れの中にあって、医学、薬学領域およびITをとりまくテクノロジーは国内外で、iPS細胞、ES細胞の医療分野での研究、トキシコゲノミクス、エピジェネティクス等遺伝子的手法の進化およびコンピューターテクノロジーの分野で目覚ましい発展を遂げています。一方ではナノマテリアル等の新規な化学物質の開発が進められつつあります。

欧州では、最近、化粧品等の安全性評価手法としての哺乳動物を用いる実験は3R (Reduction, Refinement, Replacement) の観点から見直しがなされ、動物実験による安全性データを有する化粧品原料の配合禁止が正式に決定されました。このような背景から、動物実験代替法開発 (QSAR、QBAR\*等のin silicoおよびAOP\*\*を含むin vitro試験手法)

はいまや急務となってきています。さらに前述した、内分泌かく乱問題は、2000年以後社会的には沈静化の方向にありましたが、多くの科学的検討が国際的に継続実施されてきており、最近の欧州やWHO/UNEPの動きは、NMDR (Non-Monotonic Dose Response)、混合物やカクテル効果および規制のためのCut-Offクライテリアといった新たな課題をクローズアップさせつつあります。一方で既存のリスク評価手法においても呼吸器感受性やナノマテリアルの生体内動態等未だ説明が十分ではない、あるいは早期にその解決が望まれる課題が現存するのも事実です。化学産業界としては、こういった科学的課題の解決を目指し、その解決を通じて社会に貢献することが求められており、ここに日化協LRI事業の意義、必要性があると確信する次第であります。

QBAR\* : Quantitative Biological Activity Relationship

AOP\*\* : Adverse Outcome Pathway

日本化学工業協会  
常務理事 庄野 文章



## 6. 出資会員企業

2013年3月1日現在

LRI活動のための資金は以下の企業から出資されています。

旭化成株式会社	サソールケミカルズジャパン株式会社
旭硝子株式会社	SABICイノベティブプラスチックスジャパン合同会社
アステラス製薬株式会社	三光株式会社
株式会社ADEKA	三洋化成工業株式会社
イーストマン ケミカル ジャパン株式会社	CSMジャパン株式会社
石原産業株式会社	JSR株式会社
出光興産株式会社	株式会社JSP
伊藤忠商事株式会社	JX日鉱日石エネルギー株式会社
イハラケミカル工業株式会社	JNC株式会社
上野製薬株式会社	シェブロン ジャパン株式会社
ウイルバー・エリス株式会社	シェルケミカルズ ジャパン株式会社
宇部興産株式会社	塩野義製薬株式会社
エア・ウォーター株式会社	四国化成工業株式会社
エアー プロダクツ ジャパン株式会社	株式会社資生堂
エーザイ株式会社	昭光通商株式会社
AZエレクトロニクスマテリアルズ株式会社	昭和電工株式会社
エクソンモービルジャパン合同会社	信越化学工業株式会社
エポニック デグサ ジャパン株式会社	新日鉄住金化学株式会社
大内新興化学工業株式会社	新日本理化株式会社
大倉工業株式会社	住化バイエルウレタン株式会社
大阪有機化学工業株式会社	株式会社住化分析センター
大塚化学株式会社	住友化学株式会社
花王株式会社	住友商事株式会社
株式会社カネカ	住友スリーエム株式会社
川崎化成工業株式会社	住友精化株式会社
関西熱化学株式会社	住友ベークライト株式会社
関西ペイント株式会社	積水化学工業株式会社
関東化学株式会社	積水化成成品工業株式会社
関東電化工業株式会社	セントラル硝子株式会社
株式会社岐阜セラツク製造所	綜研化学株式会社
キヤノン株式会社	双日株式会社
協和発酵キリン株式会社	第一工業製薬株式会社
クラリアント ジャパン株式会社	第一三共株式会社
株式会社クラレ	ダイキン工業株式会社
栗田工業株式会社	株式会社ダイセル
株式会社クレハ	ダイソー株式会社
ケイ・アイ化成株式会社	大日精化工業株式会社
KHネオケム株式会社	大日本塗料株式会社
広栄化学工業株式会社	大八化学工業株式会社
興人フィルム&ケミカルズ株式会社	大陽日酸株式会社
コープケミカル株式会社	ダウ・ケミカル日本株式会社
コニカミノルタホールディングス株式会社	田岡化学工業株式会社
コニシ株式会社	高砂香料工業株式会社
堺化学工業株式会社	多木化学株式会社

武田薬品工業株式会社	日本パーオキサイド株式会社
中外製薬株式会社	日本パーカラージング株式会社
中国化薬株式会社	日本ペイント株式会社
DIC株式会社	日本ポリウレタン工業株式会社
株式会社DNP ファインケミカル	日本マクダーミッド株式会社
テイカ株式会社	日本ユニカー株式会社
帝人株式会社	日本ルーブリゾール株式会社
デュポン株式会社	パイロットインキ株式会社
デュポンパフォーマンスコーティングス合同会社	長谷川香料株式会社
電気化学工業株式会社	ハンティンドン ライフサイエンス株式会社
東亜合成株式会社	BASF ジャパン株式会社
東海カーボン株式会社	日立化成株式会社
東京応化工業株式会社	富士フイルム株式会社
東京化成工業株式会社	株式会社フジミインコーポレーテッド
東ソー株式会社	株式会社ベルポリエステル プロダクツ
東燃化学合同会社	北海道曹達株式会社
東邦化学工業株式会社	北興化学工業株式会社
東洋インキSCホールディングス株式会社	保土谷化学工業株式会社
東洋合成工業株式会社	ポリプラスチックス株式会社
東レ株式会社	本州化学工業株式会社
株式会社トクヤマ	マナック株式会社
豊田通商株式会社	丸善石油化学株式会社
長瀬産業株式会社	丸紅株式会社
南海化学株式会社	三井化学株式会社
日油株式会社	三井・デュポン フロロケミカル株式会社
日産化学工業株式会社	三井・デュポン ポリケミカル株式会社
日東電工株式会社	三井物産株式会社
日本エア・リキード株式会社	三菱化学メディエンス株式会社
日本カーバイド工業株式会社	三菱ガス化学株式会社
日本カーリット株式会社	株式会社三菱ケミカルホールディングス
日本化学工業株式会社	三菱商事株式会社
日本化学産業株式会社	三菱商事フードテック株式会社
日本化成株式会社	株式会社武蔵野化学研究所
日本化薬株式会社	メタネックス・ジャパン株式会社
日本ケミカルデータベース株式会社	株式会社メディアサービス
日本合成化学工業株式会社	メルク株式会社
日本シーカ株式会社	有機合成薬品工業株式会社
株式会社日本触媒	ユニマテック株式会社
日本精化株式会社	ライオン株式会社
日本ゼオン株式会社	ラサ工業株式会社
日本曹達株式会社	ローディア ジャパン株式会社
日本電工株式会社	ローム・アンド・ハース・ジャパン株式会社
日本乳化剤株式会社	ローム・アンド・ハース電子材料株式会社
日本農業株式会社	和光純薬工業株式会社

(176社)



2012年  
**LRI** 成果報告書概要 (第12期)

一般社団法人 日本化学工業協会



この研究概要は、2011年9月に開始された第12期LRI研究の成果を要約したもので、LRIプロジェクト代表研究者より、研究期間終了後1ヶ月以内にご提出いただきましたものをもとに作成致しました。

第12期の研究課題は以下のとおり採択されたものです。

●募集期間

2011年3月1日(火)–2011年4月30日(土)(当日消印、発送印有効)

●採択方法

その会員企業に属さない外部専門家から構成されるピアレビュー委員会の評価を参考に、日化協委員が総合的評価を行い、採択課題を決定しました。

●募集した研究領域と研究範囲

LRIサイト(<http://www.j-lri.org>)内の「研究募集」から、「研究白書・募集要項」の「第12期・2011年」をご参照ください。

●採択経過

応募された88課題については、研究目標の明確性、研究内容の具体性、募集要項との整合性、成果の期待度と見込等を中心に、ピアレビュー委員の意見を参考にして6月半ばまでに書類審査を行いました。

書類審査を通過した42課題については、2011年7月1日及び2日に、各課題30分の面接審査を行い、最終的に30課題を採択しました(下表)。

表：2011年度(第12期)応募研究提案数/採択研究数

研究分野	大 学 # からの応募数	研究所 からの応募数	病院等※ からの応募数	企 業 からの応募数	計	採択研究数
共通	7	3	1	1	12	4
生態(環境)毒性	5	3	0	0	8	2
神経毒性	14	1	2	0	17	5
発がん	19	0	3	0	22	7
免疫毒性(過敏症)	18	3	1	1	23	7
リスク評価の精緻化	4	1	0	1	6	5
計	67	11	7	3	88	30

#：高等専門学校を含む。附属病院等は除く

※：大学附属病院、医療研究センター等

## ■ 成果報告書概要目次

共通	35
生態（環境）毒性	41
神経毒性	45
発がん	51
免疫毒性（過敏症）	59
リスク評価の精緻化	67





## 共 通【目次】

- 毒性予測における新たなアプローチと化学物質リスクアセスメントへの適用  
武居 綾子（有限会社イカルス・ジャパン）
- 全身の組織・細胞を標的として、*in situ*で突然変異細胞を検出することができる遺伝子改変マウスの開発  
野田 朝男（公益財団法人 放射線影響研究所）
- 核内受容体シグナル情報を基盤とした化学物質のヒトでの毒性発現評価手法の開発  
吉成 浩一（東北大学大学院薬学研究科 薬物動態学分野）
- ナノマテリアルの物理化学的性状の違いによる遺伝毒性への影響と遺伝毒性メカニズムの解析  
戸塚 ゆ加里（独立行政法人 国立がん研究センター）

## 応募研究領域

2011CM01：化学物質管理に関わる世界的動向のレビュー

## 研究表題

毒性予測における新たなアプローチと化学物質ヒト健康リスク評価への適用

## 代表研究者

武居 綾子（有限会社イカルス・ジャパン）

〒134-0081 東京都江戸川区北葛西4-23-12-401 tel：03-6204-2064 e-mail：astakei@icarus-japan.com

## 研究内容要旨

化学物質のヒトにおける毒性を予測する新技術の研究・開発の国際的な状況を把握すると共に、新技術によって得られるデータの化学物質のヒト健康リスク評価への適用に関する研究の進捗について調査を実施した。調査の結果、従来の毒性試験法の考え方に囚われず、動物実験への依存度を大幅に軽減する可能性のある毒性予測法の開発と適用を目指す研究が、米国を中心として国際的に進められていることが再確認された。現在米国では、21世紀の毒性予測法を目指す活動が産官学の研究者によって活発に推進され、米国環境保護庁（U.S. Environmental Protection Agency, EPA）をはじめとする行政機関からは、新たな毒性予測法を積極的に行政判断に適用する方針も打ち出されている。欧州（European Union, EU）においても、毒性予測法の新規アプローチを検討する研究が産官学の研究者によって既に開始されており、米国の研究者との情報交換や連携も活発化してきている。REACHの運用においては、当面、QSARや*in vitro*試験法といった既存の動物実験代替法と従来の*in vivo*試験法を併用して化学物質の有害性評価を実施しつつ、動物実験に依存しない新たな毒性予測法の行政判断への適用を模索する研究活動が推進されると考えられる。

一方、我が国における化学物質の新たな毒性予測法への対応は、欧米に比較し大きく遅れを取っている。化学物質の遺伝子レベル、分子レベルの影響に関する研究、創薬スクリーニングにおけるHTS試験やバイオインフォマティクスの活用等、国内においても関連する研究や技術の適用は進展しているが、化学物質の有害性評価およびリスク評価の推進という目的での研究活動、研究者の連携は限定的な状況である。化学物質管理に関わる国内の行政関係者における国際的な状況の認識も十分とはいえ、実験動物への依存度を軽減し、既存化学物質のリスク評価を加速する方策として新たな毒性予測法の適用を検討する動きはまだ見られない。こうした状況において、日化協LRIは、新規毒性予測法開発と適用に関する国際的な状況に対する国内研究者の認識を高め、国際的な連携に繋がる研究を助成する仕組みとして非常に重要な役割を担っていると考える。LRI運営の方針を再検討し、国内における新規毒性予測法開発と化学物質の有害性評価とリスク評価への適用の推進に寄与することが期待される。

## 研究期間

2011年9月1日～11月30日

## 成果発表

口頭発表『第20回ILSI Japan 毒性学教育講座 特別講演』－リスク評価法と放射能問題－、2011年12月14日：リスク評価への毒性情報活用ストラテジーの展望

## 応募研究領域

2011CM02：有害性評価手法の開発及びリスク評価の基盤となる毒性発現メカニズム研究

## 研究表題

全身の組織・細胞を標的として、*in situ*で突然変異細胞を検出することができる遺伝子改変マウスの開発

## 代表研究者

野田 朝男（公益財団法人 放射線影響研究所 遺伝学部）

広島市南区比治山公園5-2 tel：082-261-3131 e-mail：asnoda@rerf.or.jp URL：http://www.rerf.jp

## 共同研究者

濱崎 幹也（公益財団法人 放射線影響研究所 遺伝学部）

広島市南区比治山公園5-2 tel：082-261-3131

平井 裕子（公益財団法人 放射線影響研究所 遺伝学部）

広島市南区比治山公園5-2 tel：082-261-3131

兎玉 喜明（公益財団法人 放射線影響研究所 遺伝学部）

広島市南区比治山公園5-2 tel：082-261-3131

中村 典（公益財団法人 放射線影響研究所 遺伝学部）

広島市南区比治山公園5-2 tel：082-261-3131

## 研究内容要旨

環境物質が生体に与えるリスクを評価する新しい*in vivo*スクリーニングのシステムの開発を試みた。今回の試みは、実験動物（マウス）個体レベルにおいて、全身を構成する全ての細胞を対象として、突然変異が生じると細胞が生きたまま緑色に光るというシステムを最新の遺伝子工学技術を用いて作製するというものである。作製されたノックインマウス（HPRTdupGFP）マウスの各種臓器、組織細胞について検証した結果、体細胞や生殖細胞突然変異に伴い細胞が光ることが確認できた。また、これらマウス由来の培養細胞株も樹立し、細胞培養レベルと個体レベルの二本立てでのスクリーニングを可能とした。今後は環境リスク評価の実用化に向けてデータをさらに積み重ねる必要がある。

## 研究期間

2011年9月1日 - 2012年8月31日

## 特記事項

新LRI第一回研究報告会にてポスター発表

「全身の組織・細胞を標的として、*in situ*で突然変異細胞を検出することができる遺伝子改変マウスの開発」について

## 成果発表

1. 野田朝男、中村典、「突然変異率の再考：Revisiting mutation rate calculations」、放射線生物研究（2012）47:1-7.
2. Noda, A. Development of recombinant mouse model for the study of genetic effects of radiation. Radiation Effects Research Foundation, International Workshop: Radiation Effects on Mutation in Somatic and Germline Stem Cells（2012）, January 18-19, Hiroshima.
3. Noda, A., Suemori, H., Hirai, Y., Hamasaki, K., Kodama, Y., and Nakamura, N. HPRTdup-GFP mice: a new knock-in mouse system for the *in vivo* visualization of somatic and germ cell mutants. The 43<sup>rd</sup> annual meeting of Environmental Mutagen Society（2012）, September 8-12, Bellevue, Washington.

## 応募研究領域

2011CM02：有害性評価手法の開発及びリスク評価の基盤となる毒性発現メカニズム研究

## 研究表題

核内受容体シグナル情報を基盤とした化学物質のヒトでの毒性発現評価手法の開発

## 代表研究者

吉成 浩一（東北大学大学院薬学研究科 薬物動態学分野）

〒980-8578 仙台市青葉区荒巻字青葉6-3 tel：022-795-6828 e-mail：yoshinari@m.tohoku.ac.jp

## 共同研究者

山添 康（東北大学大学院薬学研究科 薬物動態学分野：2012年6月30日まで）

〒980-8578 仙台市青葉区荒巻字青葉6-3 tel：022-795-6827 e-mail：yamazoe@m.tohoku.ac.jp

## 研究内容要旨

本研究では、薬物応答性の核内受容体を介した肝毒性発現機序の解析ならびにその評価・予測系の開発を目的とした。得られた研究成果は次の8つにまとめられる。1) これまで困難であった核内受容体CARの活性化作用評価系を構築し、既存の手法よりも優れていることを検証した。2) CARおよびPXR活性化作用評価系を用いて化審法既存点検物質の中からヒトCAR、マウスCAR、ヒトPXR、ラットPXRの新規活性化物質（リガンド）を見出した。3) 上記システムを基に、ラット肝発がん物質検出系の構築を開始した。4) 核内受容体PXR活性化物質は、CARやPPAR $\alpha$ を介したマウス肝細胞増殖を増強することを見出した。5) マウス肝においてCARとPXRにより異なる制御を受ける細胞周期関連遺伝子を見出した。6) CARによるPPAR $\alpha$ 標的遺伝子の発現抑制に関する分子機序の知見が得られた。7) マウス肝において、PPAR $\alpha$ はCARの発現を転写レベルで制御している可能性を見出した。8) ラットKupffer細胞において、核内受容体の活性化に伴うサイトカイン・ケモカインの遺伝子発現変動プロファイルを明らかにした。以上の研究成果は、化学物質の肝臓における有害作用の発現機序の理解やその予測・評価システムの構築に向けて、有益な知見を提供すると思われる。

## 研究期間

2011年9月1日 - 2012年8月31日

## 特記事項

2012年度新LRI第1回研究報告会にて発表「核内受容体を介した化学物質の毒性発現—分子機序の理解と有害性評価への応用—」

## 成果発表

学会発表：

1. 大塚祐多、吉成浩一、山添康、「Nuclear receptor CAR down-regulates hepatic PPAR $\alpha$ -mediated expression ofHMGCS2, a key enzyme of ketogenesis, in mice and humans」日本薬物動態学会第26回年会、広島、2011年11月16日
2. 今井純、吉成浩一、山添康、「Evaluation of cell-based reporter assay systems for the assessment of the species-selective ligands of constitutive androstane receptor」日本薬物動態学会第26回年会、広島、2011年11月16日
3. 志津怜太、吉成浩一、辺野喜智、児玉進、山添康、「PXR活性化薬物の併用はCAR依存的なマウス肝細胞増殖を増強する」第39回日本毒性学会学術年会、仙台、2012年7月17日
4. 辺野喜智、吉成浩一、志津怜太、児玉進、山添康、「核内受容体CARの活性化が肝の細胞周期関連遺伝子の発現に与える影響」第39回日本毒性学会学術年会、仙台、2012年7月17日

原著論文：

1. Yoshinari K, Ohno H, Benoki S, Yamazoe Y: Constitutive androstane receptor transactivates the hepatic expression of mouse Dhcr24 and human DHCR24 encoding a cholesterologenic enzyme 24-dehydrocholesterol reductase. Toxicol Lett. 208 (2) : 185-91, 2012.
2. Benoki S, Yoshinari K, Chikada T, Imai J, Yamazoe Y: Transactivation of ABCG2 through a novel cis-element in the distal promoter by constitutive androstane receptor but not pregnane X receptor in human hepatocytes. Arch Biochem Biophys. 517:123-130, 2012.

### 応募研究領域

2011CM03：新規材料のリスク評価の基盤となる、毒性発現メカニズム研究及び動態研究

### 研究表題

ナノマテリアルの物理化学的性状の違いによる遺伝毒性への影響と遺伝毒性メカニズムの解析

### 代表研究者

戸塚 ゆ加里（独）国立がん研究センター研究所 発がんシステム研究分野）

### 研究内容要旨

近年、様々な製品にナノマテリアルが多用され、ナノマテリアルのヒトへの健康影響や安全性に高い関心が集まっている。本研究では、DNA付加体を網羅的に解析する方法（アダクトーム法）を用いて、ナノマテリアル（マグネタイト）の気管内投与によりマウス肺に生成する付加体の解析を行なったところ、マグネタイト投与群で付加体の総数がコントロールと比べ上昇したこと、および、それらの複数が酸化反応ならびに炎症反応由来であることが分かった。この結果は、マグネタイトにより誘発される遺伝毒性には、酸化ストレスや炎症が関与する事を裏付けるものとなった。また、形状や表面構造が異なる同種異型のナノマテリアル（カオリン）に注目し、これらの違いが遺伝毒性に及ぼす影響について検討した。その結果、2種のKaolinはマウス肺に対してDNA損傷性が異なり、この違いはマクロファージへの取り込みされ易さに起因することが示唆された。

### 研究期間

2011年9月1日 - 2012年8月31日

### 特記事項

第1回 日化協 新LRI研究報告会にてポスター発表  
「ナノマテリアルの物理化学的性状の違いによる遺伝毒性への影響と遺伝毒性メカニズムの解析」

### 成果発表

論文発表：

1. Kato T, Totsuka Y, Ishino K, Matsumoto Y, Tada Y, Nakae D, Goto S, Masuda S, Ogo S, Kawanishi M, Yagi T, Matsuda T, Watanabe M, Wakabayashi K. "Genotoxicity of multi-walled carbon nanotubes in both *in vitro* and *in vivo* assay systems." *Nanotoxicology*. 2012 Apr 4. [Epub ahead of print]

学会発表：

1. Yukari Totsuka, Tatsuya Kato, Kousuke Ishino, Dai Nakae, Yukie Tada, Kenichi Oyama, Akio Ogata, Masanobu Kawanishi, Takashi Yagi, Masatoshi Watanabe, Keiji Wakabayashi, Hitoshi Nakagama: "Genotoxicity induced by nanomaterials", 41<sup>th</sup> European Environmental Mutagen Society Annual Meeting, (Barcelona, SPAIN, 4-7, July, 2011).
2. 戸塚ゆ加里, "ナノマテリアルにより誘発される遺伝毒性", レドックスシンポジウム (東京, 3月, 2011)
3. Tatsuya Kato, Yukari Totsuka, Kousuke Ishino, Masatoshi Watanabe, Keiji Wakabayashi, Hitoshi Nakagama: "Differences in DNA damaging potency of differently-originated kaolins", 日本癌学会第70回大会 (名古屋, 10月, 2011)
4. Kousuke Ishino, Yukari Totsuka, Tatsuya Kato, Hitoshi Nakagama; "A comprehensive analysis of DNA adducts in mice exposed to nanomaterials", 日本癌学会第70回大会 (名古屋, 10月, 2011)
5. Kousuke Ishino, Tatsuya Kato, Tomonari Matsuda, Yukari Totsuka, Hitoshi Nakagama, "A comprehensive analysis of DNA adducts in lungs of mice exposed to nanomaterials using nanoLC-QTOF MS" 日本環境変異原学会第40回大会 (東京, 11月, 2011)
6. Tatsuya Kato, Kousuke Ishino, Tatsushi Toyooka, Yuko Ibuki, Masatoshi Watanabe, Keiji Wakabayashi, Shuichi Masuda, Yukari Totsuka, Hitoshi Nakagama, "Differences in DNA damaging potency and incorporation rate into cultured mammalian cells of differently-originated kaolins." 日本環境変異原学会第40回大会 (東京, 11月, 2011)



## 生態（環境）毒性【目次】

■ オオミジンコ (*Daphnia magna*) の性決定機構の解明

井口 泰泉（自然科学研究機構 岡崎統合バイオサイエンスセンター）

■ 海洋汚染により発生する低酸素、高二酸化炭素環境の魚類個体群の動態に及ぼす影響の評価手法の開発および毒性発現メカニズムに関する研究

澤田 好史（近畿大学水産研究所 大島実験場）

#### 応募研究領域

2011ET01：影響評価試験法の開発（OECD試験法開発への協力等）

#### 研究表題

オオミジンコ (*Daphnia magna*) の性決定機構の解明

#### 代表研究者

井口 泰泉（自然科学研究機構 岡崎統合バイオサイエンスセンター）

〒444-8787 愛知県岡崎市明大寺町東山5-1 tel：0564-59-5235 e-mail：taisen@nibb.ac.jp

#### 共同研究者

宮川 信一（自然科学研究機構 岡崎統合バイオサイエンスセンター）

〒444-8787 愛知県岡崎市明大寺町東山5-1 tel：0564-59-5237 e-mail：miyagawa@nibb.ac.jp

#### 研究内容要旨

幼若ホルモン類似物質はオオミジンコに雄を産仔させることから、環境変化による雄の産仔を理解するためには、オオミジンコの内分泌系を明らかにすることが必須となった。オオミジンコの内分泌系を理解するために、脱皮ホルモンおよび幼若ホルモンの合成および分解系に関与する酵素の遺伝子のクローニングを試みた。これらのホルモンの合成経路は昆虫類とほぼ同じであることが明らかになった。脱皮ホルモン合成系では3つの遺伝子（neverland, shade, cyp18a1）の全長を単離した。脱皮間でこれらの遺伝子の発現変化をRT-PCRによって明らかにした。また、胚発生中での発現部位を*in situ* hybridization法により解析した。さらに、幼若ホルモン合成系に関与する酵素の遺伝子のほとんどを単離している。脱皮ホルモンおよび幼若ホルモンの体内レベルの測定にも取り組んでいる。さらに、*D. pulex*を用いて、雄を産ませる環境条件を明らかにした。また、幼若ホルモン受容体にも取り組み、ほぼ完成に近付いている。

#### 研究期間

2011年9月1日 - 2012年8月31日

#### 特記事項

2012年度 新LRI 第1回 研究報告会にて発表「オオミジンコ (*Daphnia magna*) の性決定機構の解明」、東京、2012年8月31日

応募研究領域

2011ET01：影響評価試験法の開発（OECD試験法開発への協力等）

研究表題

海洋汚染により発生する低酸素、高二酸化炭素環境の魚類個体群の動態に及ぼす影響の評価手法の開発および毒性発現メカニズムに関する研究

代表研究者

澤田 好史（近畿大学水産研究所 大島実験場）

〒649-3633 和歌山県東牟婁郡串本町大島1790-4 tel：0735-65-0501 e-mail：yoshifumi.sawada@kindaisuiken.jp

共同研究者

阿川 泰夫（近畿大学水産研究所 大島実験場）

〒649-3633 和歌山県東牟婁郡串本町大島1790-4 tel：0735-65-0501

本領 智紀（近畿大学水産研究所 大島実験場）

〒649-3633 和歌山県東牟婁郡串本町大島1790-4 tel：0735-65-0501

研究内容要旨

有効な環境影響評価法として、低O<sub>2</sub>・高CO<sub>2</sub>環境暴露による形態異常の形態学的分析と高CO<sub>2</sub>毒性試験の研究成果を、さらに自然界での魚類胚の低O<sub>2</sub>・高CO<sub>2</sub>環境暴露原因としての水面での受精卵密集層形成について研究成果を纏めた。さらに両環境の毒性発現メカニズム研究をマダイで、また必要な海産魚分離浮性卵の卵膜除去法開発を実施した。加えて天然海域での有毒化学物質以外の原因での形態異常発生調査として商業用養殖種苗生産をより自然に近い条件に近づけた大量人工孵化試験で形態異常発生状況を調べた。同試験では魚類に催奇性を持つ化学物質が極力排除されているにもかかわらず形態異常が生じ、自然界でも人間活動で排出される毒物以外の要因で魚類の個体群変動を誘導する形態異常発生が予想された。魚類形態異常発生調査では、人間活動の影響と共にこのような要因も考慮されるべきである。

毒性発現メカニズム研究では、低O<sub>2</sub>と高CO<sub>2</sub>環境で応答する形態形成で重要なHIF遺伝子発現解析を行った。マダイ完全長HIF-1α遺伝子をクローニングした。マダイHIF-1αはORF757アミノ酸から構成され、N-末端からHLH、2つのPASドメインが確認できた。マダイのHIF-1αcDNA配列は同じくタイ科のヨーロピアンシーバスとグチに近かった。大西洋サケ、ニジマス、ソウギョ等は相同性が低かった。またマダイ胚を低O<sub>2</sub>と高CO<sub>2</sub>環境に暴露してHIF-1α発現量の変化を調べた。その結果HIF-1α、β-actinの転写産物は低O<sub>2</sub>で減少、高CO<sub>2</sub>で増加した。HIF-1α/β-actinの比は、低O<sub>2</sub>で減少、高CO<sub>2</sub>でさらに大きく減少した。これらは、低O<sub>2</sub>および高CO<sub>2</sub>環境下で、細胞内で異なる遺伝子発現の攪乱が生じていることを示している。

HIF-1αや体節形成関連遺伝子発現のマダイ初期胚における空間分布を知るためにin situ hybridizationを行う予定であり、そのためのProbe合成の為にプラスミド作成を終えた。

さらに、海産魚分離浮性卵の効率的な卵膜除去法が初めて開発された。

研究期間

2011年9月1日 - 2012年8月31日

特記事項

第1回新LRI研究報告会ポスターセッションにて発表「体節形成期に低酸素、高二酸化炭素環境に暴露したマダイ胚のHIF-1α遺伝子発現」

成果発表

1. "Estimated time change of dissolved oxygen and carbon dioxide concentration in the egg aggregation of red sea bream, *Pagrus major*." Yoshifumi Sawada, Kazuhiro Higuchi, Tomoki Honryo, Yasuo Agawa, Hirokazu Shiba, Tatsuo Yokoyama and Hidemi Kumai. *Aquaculture*, 350-353, 33-36.
2. "GENE EXPRESSION OF HIPOXIA INDUCIBLE FACTOR-1 ALPHA IN THE RED SEA BREAM, *Pagrus major*, EMBRYOS EXPOSED TO HYPOXIA AND HYPERCAPNIA DURING SOMITOGENESIS." Yoshifumi Sawada, Yasuo Agawa, and Tomoki Honryo. *AQUA2012 Prague, Czech Republic Sept 2012*
3. "HIF-1α gene expression in the embryo of red sea bream, *Pagrus major*, exposed to hypoxia and hypercapnia during somitogenetic stage." Yoshifumi Sawada, Yasuo Agawa, and Tomoki Honryo. *Third International Symposium on the Ocean in a High-CO<sub>2</sub> World Monterey, USA Sept 2012*



## 神経毒性【目次】

- 胚性幹細胞試験バッテリー構築  
 –実験動物とヒトの種間差にフォーカスをあてた高感度*in vitro* 発達神経毒性試験系–  
 大迫 誠一郎（東京大学大学院医学系研究科）
- 中枢ニューロンの発達にともなう自発的カルシウム振動およびシナプスマーカー発現変化を基礎にした神経発達毒性評価系の新規構築  
 沼川 忠広（独立行政法人 国立精神・神経医療研究センター 神経研究所）
- ターゲット検出法の改良による注意能力の多機能試験法の開発と発達神経毒性への応用  
 –選択的注意、持続的注意、移動的注意、及び分割的注意の試験法  
 和田 博美（北海道大学大学院文学研究科 心理システム科学講座）
- ゼブラフィッシュを用いた新しい発達神経毒性評価システムの開発  
 西村 有平（三重大学大学院医学系研究科 薬理ゲノミクス分野）
- アストロサイトの応答を指標とする発達神経毒性スクリーニング法の確立  
 田代 朋子（青山学院大学理工学部 化学・生命科学科）

#### 応募研究領域

2011NT01：中枢神経系の発達に及ぼす化学物質の影響に関する試験法についての研究

#### 研究表題

胚性幹細胞試験バッテリー構築  
－実験動物とヒトの種間差にフォーカスをあてた高感度 *in vitro* 発達神経毒性試験系－

#### 代表研究者

大迫 誠一郎（東京大学大学院医学系研究科 疾患生命工学センター 健康環境医工学部門）  
〒113-8654 東京都文京区本郷7-3-1 tel：03-5841-1432 e-mail：ohsako@m.u-tokyo.ac.jp

#### 研究内容要旨

ヒトと動物の神経発生毒性感受性を高度に比較検討する新たな胚性幹細胞テストバッテリー構築に向け、ヒト・マウスES細胞株を用いた*in vitro*分化培養系を用いて、影響の「種差」を明らかにしていくことを目的とする。評価系の構築のためにハイスループットイメージング解析が可能なES細胞株を作り、*in vivo*の個体発生を時間軸としても十分に考慮した培養系の確立を目指した。神経分化をモニタリング出来るようにヒトMAP2遺伝子プロモーター領域にIRESで連結したEGFPとLuciferaseを挿入したコンストラクトをヒトES細胞ならびにマウスES細胞へ遺伝子導入した。これらのうち、作出されたマウスES細胞由来B6N22hMAP2EGFPは神経系への分化に伴いGFPを発現していくことが確認され、発達神経毒性試験に有効な細胞株として新規性を有しているものと思われた。

#### 研究期間

2011年9月1日－2012年8月31日

#### 成果発表

大迫誠一郎研究グループ：東京大学 大学院医学系研究科 疾患生命工学センター 健康環境医工学部門

1. He X, Imanishi S, Sone H, Nagano R, Qin X-Y, Yoshinaga J, Akanuma H, Yamane J, Fujibuchi W, and Ohsako S. Effects of methylmercury exposure on neuronal differentiation of mouse and human embryonic stem cells. *Toxicol Lett* 212, 1-10, (2012)
2. Seiichiroh Ohsako, Junko Yamane, Satoshi Imanishi, Chiharu Tohyama Effects of Ahr agonist on neuronal cell differentiation from human ES cells. The 10<sup>th</sup> Annual Meeting of International Society for Stem Cell Research, June 2012, Yokohama, Japan

### 応募研究領域

2011NT01：中枢神経系の発達に及ぼす化学物質の影響に関する試験法についての研究

### 研究表題

中枢ニューロンの発達にともなう自発的カルシウム振動およびシナプスマーカー発現変化を基礎にした神経発達毒性評価系の新規構築

### 代表研究者

沼川 忠広 ((独) 国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第三部)  
〒187-0031 東京都小平市小川東町4-1-1 tel: 042-341-2712 e-mail: numakawa@ncnp.go.jp

### 共同研究者

橋戸 和夫 ((独) 国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 ラジオアイソトープ管理室)  
〒187-0031 東京都小平市小川東町4-1-1 tel: 042-346-1726 e-mail: hashido@ncnp.go.jp  
千葉 秀一 (武蔵野大学薬学部 安全性学研究室)  
〒202-8585 東京都西東京市新町1-1-20 tel: 042-468-8669 e-mail: sh-chiba@musashino-u.ac.jp  
古田 都 (聖マリアンナ医科大学医学部 生理学)  
〒216-8511 神奈川県川崎市宮前区菅生2-16-1 tel: 044-977-8111 e-mail: mfuruta@marianna-u.ac.jp  
安達 直樹 (国立精神・神経医療研究センター 神経研究所 疾病研究第三部)  
〒187-0031 東京都小平市小川東町4-1-1 tel: 042-341-2712 e-mail: adachi@ncnp.go.jp

### 研究内容要旨

神経発達における化合物の毒性評価系の新規確立のため、培養下において中枢ニューロンがシナプス成熟に伴うカルシウム濃度振動を成立させる現象を用いた。生後間もないラットの大脳皮質よりニューロンを分散培養し、毒性ストレスとして過酸化水素をシナプス形成期の直前に投与した。十分に培養を継続させると、通常は十分なカルシウム濃度振動が現れたが、過酸化水素を投与されたニューロンは著しくカルシウム応答が阻害されていた。これは、このカルシウム濃度振動の測定系が、化合物が神経発達に悪影響を及ぼすのかどうかの判定に有用であることを示唆している。カルシウム応答を測定する視覚的な解析に加えて、本研究ではシナプス関連蛋白質の発現や、伝達物質の放出量、およびマイクロRNA発現の定量など、生化学的な解析を併せて行った。

### 研究期間

2011年9月1日 - 2012年8月31日

### 成果発表

1. 「The influence of glucocorticoids on neuronal survival and synaptic function」  
Numakawa T, Adachi N, Richards M, Chiba S, Kunugi H. Biomol. Concepts, 2012, in press
2. Yamamoto N, Numakawa T, Chiba S, Richards M, Ooshima Y, Kishi S, Hashido K, Adachi N, and Kunugi H 「MicroRNA-132 induction following bFGF stimulation in glial and neural cultures」 11<sup>th</sup> Biennial Meeting of the Asian-Pacific Society for Neurochemistry (APSN) 兵庫県神戸市, 2012年9月30日-10月2日
3. Numakawa T, Adachi N, Chiba S, Kumamaru E, Ooshima Y, Hashido K, and Kunugi H 「Possible mechanism underlying negative influence of glucocorticoids on BDNF-mediated neuronal function」 11<sup>th</sup> APSN 兵庫県神戸市, 2012年9月30日-10月2日
4. Ooshima Y, Numakawa T, Chiba S, Furuta M, Adachi N, and Kunugi H 「Intrauterine growth retardation neurons show a reduction in BDNF-mediated neuronal function」 11<sup>th</sup> APSN 兵庫県神戸市, 2012年9月30日-10月2日

## 応募研究領域

2011NT01：中枢神経系の発達に及ぼす化学物質の影響に関する試験法についての研究

## 研究表題

ターゲット検出法の改良による注意能力の多機能試験法の開発と発達神経毒性への応用  
－選択的注意、持続的注意、移動的注意、および分割的注意の試験法

## 代表研究者

和田 博美 (北海道大学大学院文学研究科 心理システム科学講座)

〒060-0810 北海道札幌市北区北10条西7丁目 tel：011-706-3321 e-mail：wada@let.hokudai.ac.jp

## 共同研究者

磯 博行 (兵庫医療大学 共通教育センター)

〒650-0045 兵庫県神戸市中央区港島1丁目3-6 tel：078-304-3123 e-mail：iso@huhs.ac.jp

## 研究内容要旨

甲状腺ホルモン阻害ラットを対象に、移動的注意と分割的注意の試験法を開発した。甲状腺ホルモン阻害ラットは正反応の減少、反応時間の遅れと分散の増加を示し、注意を移動することが困難になった。分割的注意の試験では、注意を分割しているという結果は得られなかった。ADHD患者の文献にも見逃し反応の増大、反応時間の遅れと反応時間の変動の増大が報告されており、我々の成果と一致した。また生後21日目の遊離T4が、オスで正常値の40%、メスで50%に減少した。注意障害は周産期の遊離T4減少によって引き起こされた可能性が高い。今後は分割的注意課題を改良するとともに、注意障害を引き起こさないT4臨界値を明らかにし、乳幼児にとって安心・安全な化学物質を開発するための目安を提案していく。

## 研究期間

2011年9月1日－2012年8月31日

## 特記事項

第1回日化協新LRI研究報告会にてポスター発表「ターゲット検出法の改良による選択的注意および持続的注意の試験法開発」

## 成果発表

1. Wada Hiromi and Seto Yukina "Effects of perinatal hypothyroidism on shift attention in rats." Organohalogen Compounds, 2012 (in press)
2. 和田博美、瀬戸友紀奈「周産期甲状腺ホルモン阻害による認知発達への影響－注意機能をめぐって－」精神神経学雑誌 114(8)：949-956, 2012
3. Wada Hiromi "Effects of perinatal hypothyroidism on selective and sustained attention in rats." 30<sup>th</sup> International Congress of Psychology, Cape Town, South Africa, July 2012
4. Wada Hiromi and Seto Yukina "Effects of perinatal hypothyroidism on shift attention in rats." Dioxin2012, Cairns, Australia, August 2012
5. 和田博美「周産期甲状腺ホルモン阻害による認知発達への影響－注意機能をめぐって」第103回精神神経学会学術総会シンポジウム・社会性に関わる脳機能の異常と環境因子との関連 札幌、2012年5月
6. 瀬戸友紀奈、和田博美「甲状腺ホルモン阻害がラットの移動的注意に及ぼす影響」第72回動物心理学会 西宮市、2012年5月
7. 瀬戸友紀奈、和田博美「甲状腺ホルモン阻害がラットの分割的注意に及ぼす影響」第76回日本心理学会 川崎、2012年9月

### 応募研究領域

2011NT02：スクリーニング試験法の開発に役立つ基礎研究、スクリーニング試験法の開発

### 研究表題

ゼブラフィッシュを用いた新しい発達神経毒性評価システムの開発

### 代表研究者

西村 有平（三重大学大学院医学系研究科 薬理ゲノミクス分野）

〒514-8507 三重県津市江戸橋2-174 tel：059-231-5411 e-mail：yuhei@doc.medic.mie-u.ac.jp

### 共同研究者

田中 利男（三重大学大学院医学系研究科 薬理ゲノミクス分野）

〒514-8507 三重県津市江戸橋2-174 tel：059-231-5411 e-mail：tanaka@doc.medic.mie-u.ac.jp

### 研究内容要旨

発達期の脳は成人脳に比べて化学物質に対する感受性が高く、化学物質の暴露が中枢性奇形や、精神発達遅延などと密接に関連することが明らかにされている。このような化学物質の発達神経毒性を評価するため、EPAやOECDはガイドラインを制定し、多数のラットを使用して、詳細な発達神経毒性試験を実施することを推奨している。しかし、現在世界中で製造されている10万種類以上の化学物質に対して、哺乳類を用いた大規模かつ詳細な発達神経毒性試験を実施することは、費用、時間、労力、倫理面などで多くの困難を伴う。したがって、哺乳動物に代わるモデル動物を用いて、高精度、高速、安価な発達神経毒性スクリーニング試験法を開発することは、多数の化学物質の発達神経毒性評価を実現可能にし、安全な社会の構築に貢献しうる重要な研究課題である。

本研究では、近年、脊椎動物モデルとしての地位を確立しつつあるゼブラフィッシュを用いた新しい発達神経毒性試験法の開発に取り組んできた。具体的には、ゼブラフィッシュ神経系を可視化する蛍光色素や、トランスジェニック技術を用いた*in vivo*イメージングによる形態評価と、ビデオトラッキングシステムを用いたゼブラフィッシュの行動解析法を確立した。これらの評価法は、96wellプレートを用いて実施するため、多くの検体を高速かつ定量的に解析することが可能である。さらに、受精卵の遺伝子発現とDNAメチル化を網羅的に解析し、これらを統合的に解析する手法を確立した。これらの定量的なエンドポイントを基盤とする化学物質のクラスタリングにより、化学物質の発達神経毒性の類似性を明らかにすることができる。これにより、既知化学物質の情報を基盤とする新規化学物質の発達神経毒性の推定や、発達神経毒性の新たな分類などが可能になると考えられる。

### 研究期間

2011年9月1日 - 2012年8月31日

### 特記事項

2012 ICCA-LRI and UK HPA Workshop Technologies to Inform Chemical Safety Sciences (June 12-13, 2012, Budapest, Hungary) にて発表 “A Novel System for Detecting Developmental Neurotoxicity of Chemicals using Zebrafish”

### 成果発表

1. 第3回日本安全性薬理研究会学術年会（2012年2月、東京）
2. 第39回日本トキシコロジー学会学術年会（2012年7月、仙台）
3. Watanabe K, Nishimura Y, et al : *In vivo* assessment of the permeability of the blood-brain barrier and blood-retinal barrier to fluorescent indoline derivatives in zebrafish. BMC Neuroscience 13:101, 2012

### 応募研究領域

2011NT02：スクリーニング試験法の開発に役立つ基礎研究、スクリーニング試験法の開発

### 研究表題

アストロサイトの応答を指標とする発達神経毒性スクリーニング法の確立

### 代表研究者

田代 朋子 (青山学院大学理工学部 化学・生命科学科)

〒252-5258 神奈川県相模原市中央区淵野辺5-10-1 tel: 042-759-6235 e-mail: ttashiro@aoyamagakuin.jp

### 共同研究者

根岸 隆之 (青山学院大学理工学部 化学・生命科学科)

〒252-5258 神奈川県相模原市中央区淵野辺5-10-1 tel: 042-759-6236 e-mail: tnegishi@chem.aoyama.ac.jp

石崎 泰樹 (群馬大学大学院医学系研究科 医科学専攻・高次機能統御系・分子細胞生物学)

〒371-8511 群馬県前橋市昭和町3-39-22 tel: 027-220-7950 e-mail: yasukiishizaki@gunma-u.ac.jp

柴崎 貢志 (群馬大学大学院医学系研究科 医科学専攻・高次機能統御系・分子細胞生物学)

〒371-8511 群馬県前橋市昭和町3-39-22 tel: 027-220-7950 e-mail: shibasaki@gunma-u.ac.jp

### 研究内容要旨

胎生初期から生後離乳期まで、長期間にわたって複雑な発達過程をたどる脳は、化学物質感受性の高い組織であるが、実験動物を用いた評価系では多数の化学物質に対応するのは困難である。そこで私達はアストロサイトという種類の細胞に注目し、その応答パターンによって化学物質の神経毒性をスクリーニングする方法の確立を目指した。アストロサイトは脳を構成する細胞の中で最も数が多く、神経細胞を代謝的にも機能的にも支えるとともに、血管-神経インターフェースとして、血液由来の化学物質に最初に遭遇し、その神経系への影響を左右する存在である。

今年度はまず、動物実験の経験のあるトリブチルスズ (TBT) を用いて、(A) 胎齢18日 (E18) ラット大脳皮質由来初代培養細胞、(B) 継代培養アストロサイト、(C) 生後1日 (P1) ラット大脳皮質由来初代培養細胞、のアストロサイトを含む三種類の培養系で、アストロサイトの生存率、形態、生理機能について比較した結果、培養系 (C) が毒性スクリーニングに最も適していることを確認した。この培養系は、本研究で新たに培養条件を検討、最適化することにより、アストロサイト90%、神経細胞10%という生体内に近い細胞比率を再現的に得られるようになったものである。この系では、細胞死を起さない低濃度TBT添加により、GFAP (グリア繊維酸性タンパク) で強く染色される太い突起を持つ「反応性アストロサイト」へと細胞が生体内と同様の形態変化を起こし、混在する神経細胞についてもアストロサイトの共存効果を見ることができた。さらに、グルタミン酸刺激による細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度の変化や膜電流の誘発など、アストロサイトの生理機能に対するTBTの影響も感度良く検出できた。今後、この培養系 (C) を用いて、様々な化学物質に対する応答を比較・分類し、パターン化することで、発達神経毒性評価法として確立が可能であると考えられる。

### 研究期間

2011年9月1日 - 2012年8月31日

### 特記事項

新LRI 第一回研究報告会にてポスター発表「アストロサイトの応答を指標とする発達神経毒性スクリーニング法の確立」

### 成果発表

小柳洸志、田代寛典、根岸隆之、田代朋子 「大脳皮質由来初代培養神経細胞のシナプス形成に対する低濃度トリブチルスズの抑制作用」 第54回日本神経化学学会大会、山代温泉、2011年9月26日-28日

## 発がん【目次】

- 情報化学的手法を用いた有機化合物の発がん性予測に関する研究  
荒川 正幹（宇部工業高等専門学校 経営情報学科）
- 「マウス初代培養細胞の*in vitro*発がん再構成系」を用いた化合物発がん性予測法の開発  
筆宝 義隆（独立行政法人 国立がん研究センター）
- 繊維性無機物質の発がん評価法の開発  
豊國 伸哉（名古屋大学大学院医学系研究科 病理病態学講座生体反応病理学）
- 異数体化を抑制している新規細胞死誘導経路の破綻によるがん化のメカニズム  
井上 敏昭（鳥取大学医学部生命科学科 分子細胞生物学講座 ゲノム医工学分野）
- 発がん過程における「ワールブルグ効果に関連したスプライシング異常」  
—新規発がん性予測システムの開発  
田沼 延公（宮城県立がんセンター研究所 がん薬物療法研究部）
- 「がん化におけるレトロトランスポジションの役割と機序」に関する研究  
石坂 幸人（国立国際医療研究センター 難治性疾患研究部）
- DNA修復遺伝子欠損マウスES細胞およびマウスを用いた発がん物質の閾値に関する研究  
森田 隆（大阪市立大学大学院医学研究科 遺伝子制御学）

### 応募研究領域

2011CC01：非遺伝毒性発がん物質の発がん性予測法の開発

### 研究表題

情報化学的手法を用いた有機化合物の発がん性予測に関する研究

### 代表研究者

荒川 正幹 (宇部工業高等専門学校 経営情報学科)

〒755-8555 山口県宇部市常盤台2-14-1 tel: 0836-35-4013 e-mail: arakawa@ube-k.ac.jp

### 共同研究者

船津 公人 (東京大学大学院工学系研究科 化学システム工学専攻)

〒113-8656 東京都文京区本郷7丁目3番1号 tel: 03-5841-7751 e-mail: funatsu@chemsys.t.u-tokyo.ac.jp

### 研究内容要旨

本研究の目的は、多様な有機化合物の変異原性を *in silico* で予測可能な統計モデルを構築することである。クラス分類手法である Support Vector Machine (SVM) を応用した新規手法を提案し、復帰突然変異試験が実施された6,512の多様な化合物について解析を行った結果、テストセットに対する予測正解率が80%を超える優れたモデルを構築することに成功した。また、変異原性データベースに含まれるデータの一部に誤りが疑われたため、復帰突然変異試験を実施しデータの正当性を検証した。その結果、5化合物中の3化合物についてはデータベースの誤りであることを見出した。そして、構築されたモデルを広く利用してもらうことを目的に、操作性に優れたGUIを備えた変異原性予測システムを構築した。これにより、興味の対象となっている化学構造の変異原性を迅速に、精度よく予測することが可能になると期待される。

### 研究期間

2011年9月1日 - 2012年8月31日

### 成果発表

- (論文) 荒川正幹、船津公人、「変異原性予測モデルの構築 - Ames 試験データの検証」、Journal of Computer Aided Chemistry, 13, 20-28, 2012
- (口頭発表) 荒川正幹、船津公人、「有機化合物の変異原性予測モデルの構築」、第34回情報化学討論会 長崎、2011年11月12、13日
- (口頭発表) 荒川正幹、船津公人、「情報化学的手法を用いた変異原性予測」、第35回情報化学討論会 広島、2012年10月4、5日 (予定)

## 応募研究領域

2011CC01：非遺伝毒性発がん物質の発がん性予測法の開発

## 研究表題

「マウス初代培養細胞の*in vitro*発がん再構成系」を用いた化合物発がん性予測法の開発

## 代表研究者

筆宝 義隆（独立行政法人 国立がん研究センター研究所 発がんシステム研究分野 ユニット長）  
〒104-0045 東京都中央区築地5-1-1 tel：03-3547-5201（内線4554） e-mail：yhippo@ncc.go.jp

## 研究内容要旨

がんは遺伝子の病気であることから、遺伝毒性発がんについてはDNAや染色体を標的とした*in vitro*での簡便な評価法が多数開発されているが、非遺伝毒性発がんについては簡便な手法が未だ確立されておらず、長期間の動物発がん実験が不可避であった。一方我々は最近、「マウス初代培養細胞の*in vitro*発がん再構成系」を新規に開発したが、この実験系はレンチウイルスによるマウス腸管細胞へのshRNA導入後にヌードマウス皮下に移植することで、細胞レベルでのがん化を*in vitro*で可能にする。大腸発がんにおいては癌抑制遺伝子APCの変異はイニシエーターに相当し、p53やPTENの変異がプロモーターに相当することが個体レベルでも、*in vitro*発がん再構成系においても確認されている。また、一般に遺伝毒性物質は発がんのイニシエーター作用、非遺伝毒性発がん物質は発がんのプロモーター作用をそれぞれ有することが多いことが知られている。そこで、APCに対するshRNAを導入した腸管細胞に化合物を投与して造腫瘍能を検定することで、化合物の発がんプロモーター作用すなわち非遺伝毒性発がん性が検出可能になると予想した。動物実験でイニシエーターおよびプロモーター作用の両方を有することが既知である、食事由来大腸発がん物質PhIPを陽性コントロールとして、本実験系での発がんプロモーター作用の検出を試みた。まず、S6mixの投与によりPhIP活性化体の誘導を行い、shAPCまたはコントロールベクターのみを導入したマウス腸管細胞に3次元培養下で数時間ずつ1～3回投与したところ、いずれも10uMのPhIP濃度の時にshAPC細胞でのみ、非投与群と比較して巨大な血管新生を伴う皮下腫瘍が誘導されたが、コントロールベクター群には腫瘍形成を認めなかった。これらの結果は、動物実験と比較して短時間かつ少数回の投与にも関わらず、プロモーター作用が検出された可能性を示唆する。今後、投与方法をより長期間または多数回にすることで検出効率の上昇が期待される。また、現在ヌードマウス皮下での腫瘍形成能をがん化の指標としているが、動物使用の削減が推奨される現状に鑑みて、*in vitro*での発がん性の指標の確立についても検討を行った。正常腸管細胞では全くspheroidが形成されないが、これまでに*in vitro*発がん再構成系で作成した腫瘍のうち、検討に用いた十数例はいずれも浮遊培養においてspheroid形成能を獲得したことから、化合物を投与後にspheroid形成能の有無を確認することで、極めて早期に発がん性の予測が可能となることが示唆された。以上の結果から、測定条件の最適化あるいは包括化により*in vitro*での非遺伝毒性発がん性予測の実現は十分可能性が高いと考えられた。

## 研究期間

2011年9月1日 - 2012年8月31日

## 特記事項

第1回 日化協 新LRI研究報告会にてポスター発表  
「マウス初代培養細胞の*in vitro*発がん再構成系」を用いた化合物発がん性予測法の開発

## 成果発表

- 第71回日本癌学会学術総会（札幌）
1. *in vitro*再構成系におけるK-ras活性化によるApc依存的腸管発がんの促進（口演・英語）  
筆宝義隆、小沼邦重、落合雅子、中釜斉
  2. マウス正常腸管細胞を用いた*in vitro*化学発がんモデルの検討（ポスター）  
落合雅子、小沼邦重、筆宝義隆、中釜斉
  3. マウス腸管発がん再構成系を用いて作成した腫瘍の解析（ポスター）  
小沼邦重、落合雅子、筆宝義隆、中釜斉

## 応募研究領域

2011CC02：化学物質の発がん性のリスク評価に寄与しうる、細胞のがん化メカニズムに関する研究

## 研究表題

繊維性無機物質の発がん評価法の開発

## 代表研究者

豊國 伸哉（名古屋大学大学院医学系研究科 病理病態学講座生体反応病理学）  
〒466-8550 名古屋市昭和区鶴舞町65番地 tel：052-744-2086 e-mail：toyokuni@med.nagoya-u.ac.jp

## 共同研究者

山下 依子（名古屋大学大学院医学系研究科 病理病態学講座生体反応病理学）  
〒466-8550 名古屋市昭和区鶴舞町65番地 tel：052-744-2087 e-mail：yoriko@med.nagoya-u.ac.jp  
赤塚 慎也（名古屋大学大学院医学系研究科 病理病態学講座生体反応病理学）  
〒466-8550 名古屋市昭和区鶴舞町65番地 tel：052-744-2087 e-mail：akatsuka@med.nagoya-u.ac.jp  
岡崎 泰昌（名古屋大学大学院医学系研究科 病理病態学講座生体反応病理学）  
〒466-8550 名古屋市昭和区鶴舞町65番地 tel：052-744-2087 e-mail：samasuya@med.nagoya-u.ac.jp

## 研究内容要旨

多層カーボンナノチューブ（MWCNT）は導電性・耐久性・可塑性などにおいて優れた素材であり、電池・液晶フィルムをはじめとする工業製品やドラッグ・デリバリーへの応用が期待されている。ところが、繊維状形状を有するためにアスベストと同様に中皮腫を起こす可能性が懸念され、喫緊のリスク・毒性評価の必要性が指摘された。アスベストは細胞に貪食されることが知られるが、MWCNTはヒト中皮培養細胞には完全には貪食されず、直径に応じて刺さっていることが判明した。中皮細胞毒性は繊維の直径に関連し、直径50nm程度の繊維が最も高い細胞毒性や炎症惹起性を示し、さらに腹腔内投与による発がん性が最も高かった。発生した中皮腫においては、アスベストと同様にCdkn2a/2bがん抑制遺伝子のホモ欠損がほぼ全例に認められた。直径50nm程度のMWCNTは剛性・直線性が高いため中皮細胞に突き刺さりやすく、発がん性に関連していると考えられた。

## 研究期間

2011年9月1日 - 2012年8月31日

## 特記事項

2011年11月15日、NHKニュース、日本経済新聞、朝日新聞、中日新聞など多数のメディアで紹介された。

## 成果発表

Nagai Hiroataka, Okazaki Yasumasa, Chew Shan Hwu, Misawa Nobuaki, Yamashita Yoriko, Akatsuka Shinya, Ishihara Toshikazu, Yamashita Kyoko, Yoshikawa Yutaka, Yasui Hiroyuki, Jiang Li, Ohara Hiroki, Takahashi Takashi, Ichihara Gaku, Kostarelos Kostas, Miyata Yasumitsu, Shinohara Hisanori and Toyokuni Shinya. "Diameter and rigidity of multi-walled carbon nanotubes are critical factors in mesothelial injury and carcinogenesis." Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 108: E1330-1338, 2011 (selected as Highlights) .

**応募研究領域**

2011CC02：化学物質の発がん性のリスク評価に寄与しうる、細胞のがん化メカニズムに関する研究

**研究表題**

異数体化を抑制している新規細胞死誘導経路の破綻によるがん化のメカニズム

**代表研究者**

井上 敏昭（鳥取大学医学部生命科学科 ゲノム医工学分野）

〒683-8503 鳥取県米子市西町86 tel：0859-38-6264 e-mail：sour@grape.med.tottori-u.ac.jp

**共同研究者**

森 誠一（がん研究所 がんゲノム研究部）

〒135-8550 東京都江東区有明3-8-31 tel：03-3570-0450 e-mail：seiichi.mori@jfc.or.jp

**研究内容要旨**

我々は紡錘体チェックポイント（SAC）からの細胞死誘導（以下SAC誘導死）新たな発がん抑制経路であることに立脚し、この経路の構成分子の発現を変えうる化学物質を新たな非遺伝毒性発がん物質と定義する。本研究の目的は、この定義にあてはまる化学物質を洗い出すことである。

そのために、SIRT2をツール分子としてSAC誘導死経路の構成分子群候補を3つの方法で探索した。一つは、SAC制御におけるその脱アセチル化の標的タンパクを探り、候補分子としてSAC活性化に働く分子Aを同定した。このことは分子AがSAC誘導死経路の重要な構成分子であることを示すとともに、SIRT2がSAC終了に働くのは、分子Aを脱アセチル化し不安定化させることによる可能性を示唆する。二つ目は、SIRT2発現低下がもたらすSAC誘導死不全はオートファジー異常亢進によってもたらされること、このときオートファジーを人為的に抑制することでSAC誘導死が回復することを見出した。このことはオートファジー制御がSAC誘導死の重要な役割を持つことを意味する。これに立脚しオートファジー制御分子群の中からその発現変化がSAC誘導死不全をもたらす分子を6つ同定した。三つ目として、SIRT2がNAD依存性に働く酵素であることに着目し、NAD依存性に代謝酵素の群に着目、その中からNAD分解に関わる酵素の発現上昇がSAC誘導死不全をもたらすことを見つけた。以上の通り、SAC誘導死の構成分子候補を8分子同定できた。

**研究期間**

2011年9月1日 - 2012年8月31日

**特記事項**

新LRI第1回研究報告会にて発表「異数体化を抑制している新規細胞死誘導経路の破綻によるがん化のメカニズム」

**成果発表**

李艶沢、末松知久、中山祐二、押村光雄、井上敏昭、「がん治療の新たな標的分子としてのSIRT2」  
第34回日本分子生物学会年会 パシフィコ横浜、2011年12月13-16日

（予定）末松知久、李艶澤、中山祐二、押村光雄、井上敏昭、「分裂期でのSIRT2脱アセチル化標的タンパクの探索」第35回日本分子生物学会年会 福岡国際会議場・マリンメッセ福岡 2012年12月11-14日

### 応募研究領域

2011CC02：化学物質の発がん性のリスク評価に寄与しうる、細胞のがん化メカニズムに関する研究

### 研究表題

発がん過程における「ワールブルグ効果に関連したスプライシング異常」－新規発がん性予測システムの開発

### 代表研究者

田沼 延公（宮城県立がんセンター研究所・がん薬物療法研究部）

〒981-1293 名取市愛島塩手字野田山47-1 tel：022-381-1165 e-mail：ntanuma@med.tohoku.ac.jp

### 共同研究者

渡邊 利雄（奈良女子大学大学院人間文化研究科）

〒381-1293 奈良市北魚屋西町 tel：0742-20-3413 e-mail：toshiwatana@cc.nara-wu.ac.jp

近藤 玄（京都大学再生医科学研究所附属再生動物実験施設）

〒606-8507 京都市左京区聖護院 tel：075-751-4860 e-mail：kondohg@frontier.kyoto-u.ac.jp

島 礼（宮城県立がんセンター研究所・がん薬物療法研究部）

〒981-1293 名取市愛島塩手字野田山47-1 tel：022-381-1165 e-mail：shima@med.tohoku.ac.jp

### 研究内容要旨

がん特有の代謝様式は、極めて能動的な“代謝ネットワークのリプログラミング”に因ることが分かってきた。“ワールブルグ効果”と呼ばれる“嫌氣的解糖系の構成的亢進”は、がん代謝リプログラムの基幹部分を成し、がんの増殖や幹細胞性維持などに不可欠と目されている。新規発がんメカニズムとしてのワールブルグ効果の意義を検証するとともに、その発現を検出する発がん試験への応用を目標に、研究開発を行った。細胞は、がん化初期段階に、解糖系酵素PKMの酵素型をM1型からM2型へと変換させる（PKMスイッチ）。このスイッチが、ワールブルグ効果形成に必須である。そこで我々は、遺伝子ターゲティングにより、“PKMスイッチを不可能としたES細胞、およびマウス”を開発した。さらに、蛍光タンパクを使った“PKMスイッチの*in vivo*可視化”にも取り組んだ。PKMスイッチのモニター系を構築し、細胞株においてPKMスイッチの生細胞可視化に成功した。開発したこれら研究資材は、今後、種々の分野で、強力で有用な研究ツールになると期待される。

### 研究期間

2011年9月1日－2012年8月31日

### 特記事項

第1回日化協新LRI研究報告会にて発表「発がん過程における『ワールブルグ効果に関連したスプライシング異常』－新規発がん性予測システムの開発」

## 応募研究領域

2011CC02：化学物質の発がん性のリスク評価に寄与しうる、細胞のがん化メカニズムに関する研究

## 研究表題

「がん化におけるレトロトランスポジションの役割と機序」に関する研究

## 代表研究者

石坂 幸人 (国立国際医療研究センター 難治性疾患研究部)  
東京都新宿区戸山1-21-1 tel : 03-3202-7181 e-mail : zakay@ri.ncgn.go.jp

## 共同研究者

岡村 匡史 (国立国際医療研究センター ヒト型動物開発研究室長)  
東京都新宿区戸山1-21-1 tel : 03-3202-7181 e-mail : okamurat@ri.ncgm.go.jp

## 研究内容要旨

本課題は、内在性レトロエレメントである long interspersed element-1 (以下L1) の動きから癌化機序を理解することを目的としている。本研究期間の中で、特に2つの解析を中心に行なった。即ち、

- a. 加熱食品中に存在する癌原物質によるレトロトランスポジションの分子機序の解明
- b. 外来因子によるL1挿入ゲノム部位の違いと標的遺伝子の同定に向けた解析システムの確立

である。前者では、これまでLRI研究助成の支援のもとに行なってきた実験成果を論文として投稿後、レビューアーから指摘された項目について、追加実験を行なった。その結果、興味深い知見が新たに得られた。一方、後者は、L1挿入部位を明らかにするためのシステム開発で、次世代シーケンサーを用いたゲノムワイドな解析へ発展させるための基礎条件を明確にした。

## 研究期間

2011年9月1日 - 2012年8月31日

## 成果発表

論文：

1. Okudaira N, Goto M, Abe Y, Tamura M, An Y, Kano S, Ishizaka Y, Okamura T. Involvement of retrotransposition of long interspersed nucleotide element-1 in DMBA/TPA-induced skin carcinogenesis. *Cancer Sci.* 102(11) : 2000-2006, 2011.
2. Ishizaka Y, Okudaira N, Okamura T. 2012 Regulation of retrotransposition of long interspersed element-1 by mitogen-activated protein kinases. pp 187-198. In Gabriela Da Silva Xavier(ed), *Protein Kinases/Book 1*, InTech - Open Access Publisher, Croatia. <http://www.intechopen.com/books/protein-kinases>
3. Ishizaka Y, Okudaira N, Tamura M, Iijima K, Shimura M, Goto M, Okamura T. Modes of retrotransposition of long interspersed element-1 by environmental factors. *Front Microbiol.* 3:191, 2012.

学会発表：

1. 石坂幸人、奥平准之 Long interspersed element-1 is differentially regulated by environmental carcinogens via the aryl hydrocarbon receptor. 第71回日本癌学会年会 札幌, 9月, 2012.
2. 奥平准之、石坂幸人 Involvement of retrotransposition of long interspersed element 1 in DMBA/TPA induced skin tumorigenesis. 第71回日本癌学会年会 札幌, 9月, 2012.
3. 石坂幸人、岡村匡史 レトロトランスポジションの制御異常によつて疾病の発症 第36回阿蘇シンポジウム 熊本, 8月, 2012

### 応募研究領域

2011CC03：遺伝毒性発がん物質の閾値に関する分子生物学的研究

### 研究表題

DNA修復遺伝子欠損マウスES細胞およびマウスを用いた発がん物質の閾値に関する研究

### 代表研究者

森田 隆（大阪市立大学大学院医学研究科 遺伝子制御学）  
〒545-8585 大阪市阿倍野区旭町1-4-3 tel：06-6645-3925 e-mail：tmorita@med.osaka-cu.ac.jp

### 共同研究者

吉田 佳世（大阪市立大学大学院医学研究科 遺伝子制御学）  
〒545-8585 大阪市阿倍野区旭町1-4-3 tel：06-6645-3926 e-mail：k-yoshida@med.osaka-cu.ac.jp

### 研究内容要旨

我々は、化学物質のもつ発がん性について、マウスES細胞および、それらのDNA修復遺伝子を欠損した細胞を用いて、細胞毒性を指標にして解析した。とくに、DNA二重鎖切断修復に関するH2AX遺伝子の欠損株を作製し比較した。低濃度の化学物質を投与したときに、DNA修復遺伝子の欠損により、細胞毒性がどのように反映されるか検討し、発がんの閾値とDNA修復の関係を検討した。実際には、マウスES細胞にMNU、MMS、DENなどの発がん物質を投与して増殖への影響を調べた。さらに、p53およびヒストンH2AX遺伝子を欠損したマウスES細胞で同様の実験を行い、化学物質への感受性が遺伝子欠損により変化することを明らかにし、3種類の化学発がん物質に対して、ヒストンH2AX遺伝子の欠損あるいはp53遺伝子の欠損により、細胞毒性の相違がみられたことから、発がん物質の閾値がDNA修復遺伝子などの機能により変化することを明らかにした。このことは、化学物質の細胞毒性には閾値があり、それらは、防御遺伝子の機能によることを示唆している

この研究をもとに、我々は、マウス万能細胞（胚性幹細胞：ES細胞）を用いた系を開発した。化学物質の人体および環境に及ぼす影響については、迅速にその評価を行うことが必要であり、動物愛護や費用、時間的な問題からも、哺乳動物ES細胞を用いたリスク評価系の開発が役立つと考えられる。本テーマにより、平成24年5月11日、大阪市立大学より特許を出願した。

### 研究期間

2011年9月1日 - 2012年8月31日

### 特記事項

本テーマにより、平成24年5月11日、大阪市立大学より特許を出願している

### 成果発表

関連論文：

Thuy le TT, Morita T, Yoshida K, Wakasa K, Iizuka M, Ogawa T, Mori M, Sekiya Y, Momen S, Motoyama H, Ikeda K, Yoshizato K, Kawada N. "Promotion of liver and lung tumorigenesis in DEN-treated cytoglobin-deficient mice." Am J Pathol. 179(2), 1050-1060, 2011

## 免疫毒性（過敏症）【目次】

- マスト細胞培養モデルを用いた化学物質による過敏症の解析  
 田中 智之（岡山大学大学院医歯薬学総合研究科）
- GATA-3 転写因子が制御する Th2 細胞と NKT 細胞の機能を指標とした金属アレルギー形成機序の解析と生体適合性評価系の樹立  
 玉内 秀一（北里大学医学部 微生物学単位）
- セリンプロテアーゼインヒビター SLPI による過敏症制御機構の解明  
 中村 晃（金沢医科大学医学部 免疫学部門）
- 接触性皮膚炎の慢性炎症における Th2 型免疫応答の役割  
 中江 進（東京大学医科学研究所 フロンティア研究拠点）
- カルシトニン遺伝子関連ペプチドを介した活性化知覚神経系による免疫系制御機構の解析  
 辻川 和丈（大阪大学大学院薬学研究科 細胞生理学分野）
- マクロファージによる粒子状化学物質の貪食機構の解明  
 中山 勝文（東北大学 加齢医学研究所）
- 微生物由来揮発性有機化合物による皮膚および呼吸器に及ぼす影響に関する基礎的研究  
 田中 宏幸（岐阜薬科大学 機能分子学大講座 薬理学研究室）

### 応募研究領域

2011IT01：化学物質の免疫毒性（過敏症）を適切に評価する試験法の開発研究

### 研究表題

マスト細胞培養モデルを用いた化学物質による過敏症の解析

### 代表研究者

田中 智之（岡山大学 院医歯薬 生体応答制御学）

〒700-8530 岡山市北区津島中1-1-1 tel：086-251-7960 e-mail：tanaka@pharm.okayama-u.ac.jp

### 研究内容要旨

化学物質による過敏症には様々なものがあるが、アレルギー様応答が惹起されるケースでは組織のマスト細胞がしばしば重要な役割を果たしている。本研究では化学物質が直接マスト細胞を活性化し、アレルギー様応答を惹起する応答に着目し、そのような化学物質の特徴やマスト細胞活性化のメカニズムを解明することを目的とした。また、慢性アレルギー疾患でしばしば見られる高IgE血症において、マスト細胞の応答性が変化する可能性を検討するためにIgE結合の効果についても評価を行った。

9種類の接触性皮膚炎のモデル抗原を様々なマスト細胞モデルを用いてスクリーニングしたところ、ラット腹腔マスト細胞を用いた評価系により、ハロゲン化ジニトロベンゼン（DNXB）が直接脱顆粒を惹起することを見いだした。DNXBによる脱顆粒応答は、百日咳毒素、ホスホリパーゼC阻害剤、Ca<sup>2+</sup>キレーターによりいずれも有意に阻害され、三量体型Gタンパク質のG<sub>i</sub>を介するホスホリパーゼC活性化により、細胞内Ca<sup>2+</sup>濃度が上昇するという経路で活性化を惹起していることが推察された。また、誘導体の一種であるジニトロフェノールはこの経路のアンタゴニストとして作用することが示唆された。DNXBによる脱顆粒応答はマウスマスト細胞株C57においても確認され、細胞外からのCa<sup>2+</sup>流入が脱顆粒に必須であることが明らかとなった。DNXBの複数の誘導体を合成、評価した結果、ハロゲンが結合するベンゼン環の1位の炭素の電子密度と脱顆粒率には相関があることが明らかとなった。一方、抗原非存在下においてマスト細胞を活性化することが知られるIgEクローンをを用いた検討では、感作時の濃度が高いほど抗原刺激時の脱顆粒レベルが低下することが明らかとなった。阻害剤を用いた検討により、抗原刺激時の脱顆粒応答の低下には、感作時に活性化されるJNKが関わることを示唆された。

本研究を通じて、1) マスト細胞培養モデルを組み合わせて用いることにより、化学物質による直接的なマスト細胞活性化の評価が可能であること、2) IgEの結合はマスト細胞の活性化応答に影響を与えること、が明らかとなった。

### 研究期間

2011年9月1日 - 2012年8月31日

### 特記事項

第1回新LRI研究報告会ポスターセッションにて発表  
「マスト細胞培養モデルを用いた化学物質による過敏症の解析」

### 成果発表

Restriction of mast cell proliferation through hyaluronan synthesis by co-cultured fibroblasts. Takano, H., Furuta, K., Yamashita, K., Sakanaka, M., Itano, N., Gohda, E., Nakayama, K., Kimata, K., Sugimoto, Y., Ichikawa, A., and Tanaka, S. Biol. Pharm. Bull. 35, 408-412, 2012

## 応募研究領域

2011IT01：化学物質の免疫毒性（過敏症）を適切に評価する試験法の開発研究

## 研究表題

GATA-3転写因子が制御するTh2細胞とNKT細胞の機能を指標とした金属アレルギー形成機序の解析と生体適合性評価系の樹立

## 代表研究者

玉内 秀一（北里大学医学部 免疫学単位）

〒252-0374 神奈川県相模原市南区北里1-15-1 tel：042-778-8558 e-mail：hidetama@med.kitasato-u.ac.jp

## 共同研究者

岩淵 和也（北里大学医学部 免疫学単位）

〒252-0374 神奈川県相模原市南区北里1-15-1 tel：042-778-8025 e-mail：akimari@kitasato-u.ac.jp

小茂鳥 潤（慶応義塾大学理工学部機械工学科）

〒223-8522 神奈川県横浜市港区北区日吉3-14-1 tel：045-566-1502 e-mail：komotori@mech.keio.ac.jp

兼松 秀行（鈴鹿工学高等専門学校）

〒510-0294 三重県鈴鹿市白子町 tel：059-368-1849 e-mail：kanemats@mse.suzuka-ct.ac.jp

樋尾 勝也（三重県工業研究所 金属研究室）

〒511-0937 三重県桑名市大字志知字西山208番地 tel：0594-31-0300 e-mail：hiok00@pref.mie.jp

## 研究内容要旨

金属を用いた生体材料開発に伴い、その金属によるアレルギー疾患の誘発の可能性が示唆されことから生体への影響をより詳細に検討することは重要である。金属アレルギーの発症におけるTh2型免疫反応の関与を検討する為に、Th2マスター分子GATA-3 遺伝子導入トランスジェニック（GATA-3 Tg）マウスを用いて、Ni及びCoアレルギー誘導について検討した。その結果、(1) GATA-3 Tgマウスでは、Niに対して48～96時間目に対照群より約3倍強い耳介腫脹反応が観察されたが、Coではその反応が認められなかった。(2) 酸素拡散処理による表面改質はNiで反応が抑制されたが、Coでは抑制されなかった。以上の結果から、金属種により関与する免疫反応が異なり、また適切な表面改質方法を選択しなければならないことが示唆された。

## 研究期間

2011年9月1日～2012年8月31日

## 特記事項

第1回新LRI研究報告会にて発表「免疫センサーを用いた新規材料開発の可能性について」 東京、2012年8月31日

## 成果発表

GATA-3 regulates contact hyperresponsiveness in a murine model of allergic dermatitis.

Tamauchi Hidekazu, Amoh Yasuyuki, Itoh Mamoru, Terashima Masazumi, Masuzawa Mikio, Habu Sonoko, Katsuoka Kensei, Iwabuchi Kazuya.

Immunobiology. 217(4) : 446-54, 2012.

一般社団法人 日本鉄鋼協会 第164会秋季講演大会 松山、2012年9月

第62回日本アレルギー学会秋季学術大会 大阪、2012年11月

### 応募研究領域

2011IT02：免疫メカニズムに及ぼす化学物質の影響とその作用機序に関する研究

### 研究表題

セリンプロテアーゼインヒビター SLPI による過敏症制御機構の解明

### 代表研究者

中村 晃（金沢医科大学医学部 免疫学講座）

〒920-0293 石川県河北郡内灘町大学1-1 tel：076-218-8120 e-mail：aki-n@kanazawa-med.ac.jp

### 研究内容要旨

アレルギー疾患は免疫系の過剰な応答によって引き起こされる難治性疾患である。化学物質を含む環境要因の関与が指摘されているが、その詳細な原因は未だ不明なままである。アレルギー反応では、マスト細胞や好塩基球がエフェクター細胞として働いている。これらの細胞は抗原や化学物質の刺激により、ヒスタミンなどの化学伝達物質や様々なサイトカインのみならず、キマーゼなどのセリンプロテアーゼを放出・産生する。これらセリンプロテアーゼは、本来細菌感染に対する防御機構として働くが、過剰な分泌は組織破壊を引き起こす。しかしながら、プロテアーゼの作用を制御するセリンプロテアーゼインヒビターが、アレルギーのエフェクター細胞に果たす役割は不明なままである。そこで本研究では、マスト細胞および好塩基球の化学物質に対する応答性に、代表的なセリンプロテアーゼインヒビターであるSLPIが与える影響を検討した。

野生型マウスの骨髄細胞よりマスト細胞、好塩基球、好酸球を誘導した。その結果、いずれの細胞においてもSLPIの発現を認めしたが、好塩基球で顕著な発現を認めた。一方、マスト細胞では好塩基球の約1/40程度と極めて低い発現であった。次にSLPI欠損マウスの骨髄よりマスト細胞および好塩基球を誘導し、IgE刺激、LPS刺激、IgEおよび化学物質同時刺激を行い、野生型マスト細胞とサイトカイン産生について比較検討を行った。その結果、SLPI欠損マスト細胞ではIgEおよび化学物質刺激に対するサイトカイン産生は野生型マスト細胞と同程度であった。一方、好塩基球を用いた検討では、SLPI欠損好塩基球は、4種類の化学物質においてIgE同時刺激によるサイトカイン産生が野生型好塩基球と比較して有意に亢進していた。また個体レベルでのSLPI欠損好塩基球の役割を検討するために、IgE受容体の発現がないFcR $\gamma$ 鎖欠損マウスに野生型、SLPI欠損好塩基球を移入し、皮膚アナフィラキシー反応を誘導した。その結果、SLPI欠損好塩基球移入マウスにおいて皮膚肥厚が亢進しており、SLPIは個体レベルでも好塩基球によるアレルギー反応を制御していると考えられた。

以上、本研究の結果から、SLPIが好塩基球において高発現しており、IgEおよび化学物質同時刺激に対するサイトカイン産生を抑制していることが明らかになった。今後、細胞毒性の影響の検討など解決すべき問題点はあるが、SLPIを欠損させた細胞株は高反応性で鋭敏な評価系となる可能性が考えられた。

### 研究期間

2011年9月1日 - 2012年8月31日

### 特記事項

第1回日化協新LRI研究報告会にてポスター発表 「セリンプロテアーゼインヒビター SLPIによる過敏症制御機構の解明」  
東京、2012年8月

**応募研究領域**

2011IT02：免疫メカニズムに及ぼす化学物質の影響とその作用機序に関する研究

**研究表題**

接触性皮膚炎の慢性炎症におけるTh2型免疫応答の役割

**代表研究者**

中江 進（東京大学医科学研究所 システム疾患モデル研究センター システムズバイオロジー研究分野）  
〒108-8639 東京都港区白金台4-6-1 tel：03-6409-2111 e-mail：snakae@ims.u-tokyo.ac.jp

**共同研究者**

須藤 一（順天堂大学医学部 アトピー疾患センター）  
〒113-8421 東京都文京区本郷2-1-1 tel：03-5802-1591 e-mail：suto@juntendo.ac.jp  
須藤 カツ子（東京医科大学 動物実験センター）  
〒160-8402 東京都新宿区新宿6-1-1 tel：03-3358-2319 e-mail：ksudo@tokyo-med.ac.jp

**研究内容要旨**

接触型過敏症（Contact hypersensitivity：CHS）の発症には好酸球の浸潤に必須なTh2サイトカインが重要であることがIL-4、IL-5受容体やSTAT6欠損マウスを用いた解析から明らかになっており、好酸球がCHSの発症および病態形成に何らかの関与を持っていることが示唆されているものの、その役割については明確になっていない。アレルゲンに経皮感作された個体が、その後、アレルゲンに単回接触することにより発症するCHS（急性）の炎症部位では好中球と好酸球の集積が認められるのに対し、反復接触による慢性CHSの炎症部位で集積する顆粒球は好酸球が大部分を占める。そこで、好酸球欠損マウスを利用して、CHSの発症及び慢性化における好酸球の役割を明らかにするとともに、好酸球の浸潤や活性化、Th2サイトカインの誘導に関わるサイトカイン（IL-25、IL-33、TSLP）の役割を明確にすることを目的とした。その結果、好酸球欠損マウス（ $\Delta$ dblGATA-1マウス）では、FITCの塗布による急性CHSが抑制されることが明らかになり、急性CHSの発症に好酸球が関わっていることが明らかになった。また、急性CHSの誘導には、IL-33ではなくIL-25が重要であり、慢性CHSでは、IL-33とIL-25の両方が関わることを明らかになった。

**研究期間**

2011年9月1日－2012年8月31日

### 応募研究領域

2011IT02：免疫メカニズムに及ぼす化学物質の影響とその作用機序に関する研究

### 研究表題

カルシトニン遺伝子関連ペプチドを介した活性化知覚神経系による免疫系制御機構の解析

### 代表研究者

辻川 和丈 (大阪大学大学院薬学研究科 細胞生理学分野)

〒565-0871 大阪府吹田市山田丘1-6 tel: 06-6879-8190 e-mail: tujukawa@phs.osaka-u.ac.jp

### 共同研究者

深田 宗一郎 (大阪大学大学院薬学研究科 細胞生理学分野)

〒666-0871 大阪府吹田市山田丘1-6 tel: 06-6879-8193 e-mail: fukada@phs.osaka-u.ac.jp

北恵 郁緒里 (大阪大学大学院薬学研究科 細胞生理学分野)

〒666-0871 大阪府吹田市山田丘1-6 tel: 06-6879-8192 e-mail: kitae@phs.osaka-u.ac.jp

### 研究内容要旨

知覚神経ペプチドである calcitonin gene-related peptide (CGRP) は、知覚神経伝達物質として痛覚伝達に関わるとともに、免疫系に対しても顕著な制御作用を発現する。我々は、CGRPが Toll-like receptor (TLR) リガンドで刺激した骨髄由来樹状細胞 (BMDC) からの炎症性サイトカイン産生を抑制することや、ヘルパー T (Th) 細胞の Th2、Th17、Th9細胞への分化を促進させることなどを明らかにしてきた。さらに CGRP 受容体特異的サブユニットである receptor activity-modifying protein 1 (RAMP1) を欠損したマウスを作製し、I型アレルギーモデルである食物アレルギーや気道炎症、IV型アレルギーモデルである遅延型過敏反応や接触過敏反応、そして自己免疫性脳脊髄炎を CGRP が生理的にも制御することも突き止めた。さらに、幼若期における化学物質の刺激が CGRP 含有神経の伸長を促進し、成体期におけるアレルギー応答性を変化させる可能性を示してきた。

本年度の研究では、CGRPのTh細胞分化制御における詳細なメカニズムを解析し、転写因子 NFATc2の重要性を示すことができた。また、幼若期におけるホルムアルデヒド刺激が CGRP 含有神経の伸長を促進させることで、Th2型皮膚炎症を悪化させること、さらに RAMP1 欠損マウスではこの作用が見られないことを見出した。これらの結果はホルムアルデヒドによる Th2型アレルギー反応の悪化は、知覚神経からの CGRP 放出量の増加による Th細胞の機能攪乱によることを示唆した。また、 $\alpha$  CGRP、 $\beta$  CGRP 欠損マウスを用いた検討も進めた。その結果、両アイソフォーム欠損マウスにおいて表現型の差異は認められず、CGRPの皮膚免疫制御作用には $\alpha$  CGRPと $\beta$  CGRPの両方が寄与していることが明らかとなった。これらの結果は CGRP を介した神経系による免疫応答制御がアレルギー疾患の発症や悪化を引き起こすことを示唆するものであり、過敏症の化学物質による修飾機構においても新たな懸念を提案するものである。

### 研究期間

2011年9月1日 - 2012年8月31日

### 成果発表

1. "Calcitonin gene-related peptide enhances experimental autoimmune encephalomyelitis by promoting Th17 cell functions" Mikami N, Watanabe K, Hashimoto N, Miyagi Y, Sueda K, Fukada SI, Yamamoto H, Tsujikawa K. International Immunology, in press.
2. 三上統久、渡辺桂子、橋本なぎさ、深田宗一郎、山元 弘、辻川和丈、「神経ペプチド CGRP の cAMP/PKA 経路を介した Th17 細胞分化促進作用」、第40回日本免疫学会 千葉、2011年11月
3. 宮城弥生、三上統久、末田佳織、深田宗一郎、山元 弘、辻川和丈、「神経ペプチド CGRP の Th9 細胞分化促進作用」、第40回日本免疫学会 千葉、2011年11月
4. 三上統久、深田宗一郎、山元 弘、辻川和丈、「神経ペプチド CGRP の皮膚免疫制御作用」、日本薬学会第132年会 札幌、2012年9月
5. 三上統久、深田宗一郎、山元 弘、辻川和丈、「神経ペプチド CGRP の皮膚免疫制御作用」、第39回日本毒理学学会学術集会 仙台、2012年7月

## 応募研究領域

2011IT03：免疫学的な機序の関与が不明な過敏症に関する研究

## 研究表題

マクロファージによる粒子状化学物質の貪食機構の解明

## 代表研究者

中山 勝文（東北大学 加齢医学研究所 生体防御学分野）

〒980-8575 仙台市青葉区星陵町4-1 tel：022-717-8579 e-mail：mnakayama@idac.tohoku.ac.jp

## 共同研究者

小笠原 康悦（東北大学 加齢医学研究所 生体防御学分野）

日下 智聖（東北大学 加齢医学研究所 生体防御学分野）

## 研究内容要旨

シリカ粒子の長期大量暴露はじん肺を引き起こす危険性がある一方で、そのナノ粒子は新たな化学工業製品や医薬品の材料として期待されている。したがって、粒子径等の物性の異なるシリカ粒子が人体に及ぼす影響についての評価系の構築は急務である。本研究では、シリカ粒子の免疫毒性を評価する一環として、シリカ粒子の物性（粒子径、粒子数、および濃度）がマウス免疫系に与える影響について*in vitro*および*in vivo*実験により解析した。粒子径 $3\mu\text{m}$ ～ $10\mu\text{m}$ のシリカ粒子に比べ $30\text{nm}$ ～ $1\mu\text{m}$ 粒子径のシリカ粒子に対してマウス骨髄由来マクロファージは極めて強い炎症応答（インフラマソーム活性化およびIL-1 $\beta$ 産生）を示した。さらにシリカ粒子径の違いにより肺炎の重症度が異なるか否かを検討するために粒子径 $30\text{nm}$ あるいは $3\mu\text{m}$ のシリカ粒子をC57BL/6マウス気管内投与し、肺胞洗浄液中サイトカイン測定および肺病理解析を行った結果、 $3\mu\text{m}$ よりも $30\text{nm}$ シリカ投与により極めて激しい肺炎が起きることが明らかとなった。以上の結果から、粒子径 $1\mu\text{m}$ 以下のシリカ粒子は起炎性が高いことが示唆される。

## 研究期間

2011年9月1日－2012年8月31日

## 成果発表

Kusaka T, Nakayama M, Nakamura K, and Ogasawara K: Effect of particle size of silica on macrophage inflammatory responses, Annual meeting of the Japanese Society for Immunology, Dec 5-7, 2012. Kobe

### 応募研究領域

2011IT03：免疫学的な機序の関与が不明な過敏症に関する研究

### 研究表題

微生物由来揮発性有機化合物による皮膚および呼吸器に及ぼす影響に関する基礎的研究

### 代表研究者

田中 宏幸 (岐阜薬科大学 機能分子学大講座 薬理学研究室)

〒501-1196 岐阜県岐阜市大学西1-25-4 tel: 058-230-8100 内線3664 e-mail: hirotnk@gifu-pu.ac.jp

### 共同研究者

山越 大輝、北野 高道、松巾 宗平 (岐阜薬科大学 機能分子学大講座 薬理学研究室)

〒501-1196 岐阜県岐阜市大学西1-25-4 tel: 058-230-8100 e-mail: 086040@gifu-pu.ac.jp

### 研究内容要旨

揮発性有機化合物 (Volatile Organic Compounds: VOCs) はシックハウス症候群 (SHS) の主要な原因の一つとして知られている。採択研究者らは、第11期 LRI 研究において代表的な VOCs としてホルムアルデヒド (FA) をマウス気道内に曝露し、起炎性ならびに気道反応性に及ぼす影響を検討した。その結果、気管支肺胞洗浄液中において好中球数の増加傾向が見られる以外に顕著な変化は観察されず、アセチルコリンに対する気道収縮反応についても対照群に比しむしろ気道反応性の低下が認められた。一方、FA の影響を気道反応性以外の呼吸数や動脈血 O<sub>2</sub> 飽和度などの指標でモニターすることは VOCs などのスクリーニングにおいても重要である。そこで、第12期 LRI 研究では FA 点鼻後の種々の時間に小動物用パルスオキシメーターを用いて、経時的に動脈血 O<sub>2</sub> 飽和度・呼吸数・心拍数の3種類をモニタリングした。その結果、麻酔下のマウスに対する FA の点鼻曝露は呼吸数および心拍数に対しては影響を及ぼさなかったが、動脈血 O<sub>2</sub> 飽和度は FA の濃度依存性的かつ有意に低下した。これに対し、覚醒下のマウスに対する FA の点鼻曝露は、単回、連続、長期曝露いずれにおいても、動脈血 O<sub>2</sub> 飽和度・呼吸数・心拍数に顕著な影響を及ぼさなかった。以上の成績より、麻酔下において小動物用パルスオキシメーターを用いた動脈血 O<sub>2</sub> 飽和度のモニタリングは、より低濃度の VOCs あるいは微生物由来有機化合物 (Microbial Volatile Organic Compounds: MVOCs) による呼吸器系への影響を検討する上で、非常に有用な測定であると思われた。

一方、カビや細菌などに由来する MVOCs が SHS の発症に関与することが示唆されている。そこで、本研究ではマウス鼻腔内に MVOCs を曝露し、種々の時間に小動物用パルスオキシメーターを用いて、経時的に呼吸数・動脈血 O<sub>2</sub> 飽和度・心拍数の3種類をモニタリングした。その結果、3-methyl-1-butanol 投与群において動脈血 O<sub>2</sub> 飽和度の低下が認められた。詳細については今後の研究課題であるが、曝露される VOCs の種類により呼吸数・動脈血 O<sub>2</sub> 飽和度・心拍数などの症状発現がそれぞれ異なる可能性が示唆された。粘膜刺激物質については、気道上皮内の三叉神経終末に存在する苦味受容体 (T2R) の認識により、生体防御反応としてニコチン様アセチルコリン受容体を介して呼吸数の減少が生じることが報告されている。本研究においても T2R 作動薬投与による動脈血 O<sub>2</sub> 飽和度の有意な低下がニコチン受容体拮抗薬で抑制されることを確認した。そこで、FA 点鼻曝露に及ぼすニコチン受容体拮抗薬の影響を検討したところ、顕著な影響が認められなかったことから、FA 点鼻投与による動脈血 O<sub>2</sub> 飽和度の低下は、T2R あるいはニコチン様アセチルコリン受容体を介さない反応である可能性が示唆された。

### 研究期間

2011年9月1日 - 2012年8月31日

## リスク評価の精緻化【目次】

- 事業者の自主的リスク評価・管理を支援する環境リスク評価ツールの開発  
 林 彬勲（独立行政法人 産業技術総合研究所 安全科学研究部門）
- Active QSAR モデリングによるハザード予測の精緻化  
 高橋 由雅（豊橋技術科学大学大学院工学研究科 情報・知能工学系）
- 広範な化合物の毒性予測を行う新規システムの開発  
 高木 達也（大阪大学大学院薬学研究科 生命情報環境科学専攻 情報・計量薬学分野）
- 化学物質の濃度データと曝露サイエンスを結合するヒト生理学的薬物動態モデルの精緻化と活用  
 山崎 浩史（昭和薬科大学 薬物動態学研究室）
- 産業界による自主的なリスク管理のための暴露評価手法の開発  
 東海 明宏（大阪大学大学院工学研究科 環境・エネルギー工学専攻）

### 応募研究領域

2011RA01：総合的リスク評価手法の開発

### 研究表題

事業者の自主的リスク評価・管理を支援する環境リスク評価ツールの開発

### 代表研究者

林 彬勲（独立行政法人 産業技術総合研究所 安全科学研究部門）

〒305-8569 茨城県つくば市小野川16の1 tel：029-861-8844 e-mail：binle-lin@aist.go.jp

### 共同研究者

加茂 将史（独立行政法人 産業技術総合研究所 安全科学研究部門）

〒305-8569 茨城県つくば市小野川16の1 tel：029-861-8029 e-mail：masashi-kamo@aist.go.jp

内藤 航（独立行政法人 産業技術総合研究所 安全科学研究部門）

〒305-8569 茨城県つくば市小野川16の1 tel：029-861-8299 e-mail：w-naito@aist.go.jp

### 研究内容要旨

本研究では、リスク評価研究に多くの実績を上げてきた代表研究者らが一体となり、その専門性と技術優位性を活かし、高度な評価技術と膨大な評価用データを組み込んだ、最新のリスク評価ツールを開発し、誰もが使いやすいようなかたちで提供することを目的とした（図1）。第11期LRI研究の成果である「汎用性生態リスク評価ツール（β版）」を土台とし、アンケート調査等で蓄積した事業者のニーズに基づき、ツールの実用化に向けた研究開発を行った。その結果、化審法におけるスクリーニング的な環境リスク評価から生態学的関連性の高いリスク評価まで対応可能な「0.9版ツール」（マニュアル含む）を開発することができた。本ツール開発の成果は、リスクベースの化学物質管理社会の実現のための基盤整備に貢献するとともに、事業者の自主的な環境リスク評価・管理の普及・推進に大きく寄与すると考えられる。

（図1）



### 研究期間

2011年9月1日 - 2012年8月31日

### 成果発表

1. 林・山田・加茂・内藤（2011年10月）産総研オープンラボ2011、ツールデモ：誰でも簡単にできる化学物質の生態リスク評価
2. Lin（2012年5月）SETAC 6<sup>th</sup> World Congress/SETAC Europe 22nd Annual Meeting IN Berlin:How much of a difference in assessing ecological risk between effects of organism-level and population level?
3. 林・平田・加茂・内藤（2012年6月）LRIケミカルリスクフォーラム平成24年度第2回研修会、招待講演：事業者の自主的リスク評価・管理を支援する環境リスク評価ツールの開発
4. 林・平田・加茂・内藤（2012年8月）第1回 日化協 新LRI研究報告会、ポスター発表：業界ニーズ対応型リスク評価管理ツールの開発
5. 林・平田・加茂・内藤（2012年10月予定）産総研オープンラボ2012、ツールデモ：化審法対応可能な汎用生態リスク評価管理ツール
6. 林・加茂・内藤（印刷中）産総研安全科学研究部門ニューズレター、汎用生態リスク評価管理ツール

### 応募研究領域

2011RA02：化学物質の総合的情報集約とその解析方法の開発

### 研究表題

Active QSAR モデリングによるハザード予測の精緻化

### 代表研究者

高橋 由雅（豊橋技術科学大学大学院 工・情報知能工学系）

〒441-8580 愛知県豊橋市天伯町雲雀ヶ丘1-1 tel：0532-44-6878 e-mail：taka@cs.tut.ac.jp

### 共同研究者

大山 美香（豊橋技術科学大学大学院生）

〒441-8580 愛知県豊橋市天伯町雲雀ヶ丘1-1 tel：0532-44-5729

宮脇 康司（豊橋技術科学大学大学院生）

〒441-8580 愛知県豊橋市天伯町雲雀ヶ丘1-1 tel：0532-44-5729

### 研究内容要旨

QSAR（定量的構造活性相関）は化学物質の構造と活性（毒性）との関係を定量的にモデル化し、これをもとに未知の化合物のデータを予測しようとするものであり、既にOECDの化学物質管理プログラムにおいてもQSARや関連技術の積極的な活用が推進されているところである。しかし、構造的に多様な物質を対象とした毒性予測などにおいては、対象とする化学物質の拡大に伴い、その近似精度が著しく低下してしまうという問題がある。このことから、より精度の高い予測結果を得るための手法やモデルの精緻化のため新たな技術が望まれる。本研究では、より精度の高い予測結果を得ることをねらいとし、QSARモデリングに対し、予測対象化合物の構造類似性を基礎とした訓練集合のアクティブサンプリングにもとづき、予測化合物ごとに近傍空間における局所モデルを動的に生成する独自の手法を提案するとともに、その有用性について合成データおよび実データを用いて検討し、利用可能なデータを一括利用してモデリングを行う従来の手法（一括モデリング）に比べ、良好な予測結果が得られることを明らかにした。

### 研究期間

2011年9月1日 - 2012年8月31日

### 特記事項

2012年度新LRI研究報告会にて発表（ポスター掲示のみ）

「アクティブサンプリングによるbaseline毒性のQSARモデリングとデータ予測」

### 成果発表

1. 大山美香、高橋由雅、「アクティブサンプリングによるデータモデリングと予測の精緻化」、第39回構造活性相関シンポジウム 野田市、2011年11月
2. 高橋由雅、大山美香、「アクティブサンプリングによるbaseline毒性のQSARモデリング」第21回環境化学討論会 松山市、2012年7月

## 応募研究領域

2011RA02：化学物質の総合的情報集約とその解析方法の開発

## 研究表題

広範な化合物の毒性予測を行う新規システムの開発

## 代表研究者

高木 達也（大阪大学大学院薬学研究科 情報・計量薬学分野 兼 大阪大学微生物病研究所 附属遺伝情報実験センター）  
〒565-0871 大阪府吹田市山田丘1-6 tel：06-6879-8243 e-mail：ttakagi@phs.osaka-u.ac.jp

## 共同研究者

川下 理日人（大阪大学大学院薬学研究科 情報・計量薬学分野 兼 大阪大学微生物病研究所 附属遺伝情報実験センター）  
〒565-0871 大阪府吹田市山田丘1-6 tel：06-6879-8244 e-mail：kawasita@gen-info.osaka-u.ac.jp  
岡本 晃典（大阪大学大学院薬学研究科 情報・計量薬学分野）  
〒565-0871 大阪府吹田市山田丘1-6 tel：06-6879-8242 e-mail：okamotok@phs.osaka-u.ac.jp

## 研究内容要旨

化学物質の構造や物性等に基づいて分類し、類推や補間、外挿をすることにより未だ分かっていない化合物のエンドポイントを推定するカテゴリーアプローチは、化学物質のリスクアセスメントにおいて主要な手法の一つである。しかし、リスクを評価すべき化学物質数は拡大の一途を辿っており、実測データの存在する化合物と類似性が見出し難い化合物の持つ毒性をどのようにして適切に予測するかの検討は、カテゴリーアプローチを補完する意味において非常に重要である。そこで我々は、構造や物性の面で多様な化学物質群からなる広範な情報を基にして、かつ構造等に基づくカテゴリー分類を行わずに、毒性を予測する手法・モデルを構築すること、そしてそのモデルを一般に提供するシステムを構築することを本研究の目的とした。

三年の全体計画の二年目にあたる今年度は、一年目の生態影響試験結果の回帰的予測モデルと並行して使用する、順序カテゴリー予測モデル構築を行い、妥当な予測結果を得た。一方で非線形な解析手法の有用性が示唆されたことから、既存の線形手法をカーネル関数による非線形化を行い、順序カテゴリーデータを非線形に解析する手法へと拡張した。その新たなアルゴリズムによる非線形な予測モデルは生態影響試験の順序カテゴリーデータに対し有用であることが示唆された。また、複数のケモインフォマティクスツールを利用可能な共通APIを利用し、予測モデルを広く一般に提供するためのシステムのひな形として、記述子算出機能を持つWebサイトを構築した。予測モデルへの適用以降は未完成であるが、懸案事項であった広く提供可能な方法による記述子算出がWebを通じて可能になったことは、本研究における毒性予測のQSARモデルは勿論、化学物質の物性や活性に対するQSARモデルの提供基盤の構築として重要な役割を果たすことが十分に期待できる。

## 研究期間

2011年9月1日 - 2012年8月31日

## 特記事項

第1回 日化協 新LRI研究報告会にてポスター発表「広範な化合物の毒性予測を行う新規システムの開発」

## 成果発表

寺本泉瑠、宇根琢、岡本晃典、川下理日人、高木達也、「オープンアクセス可能な広範な化合物に対応する高等動物への毒性予測システムの検討」、第40回構造活性相関シンポジウム 静岡、2012年11月

## 応募研究領域

2011RA03：化学物質の曝露・体内動態と生体応答を予測する手法の開発研究

## 研究表題

化学物質の濃度データと暴露サイエンスを結合するヒト薬物動態モデルの精緻化と活用

## 代表研究者

山崎 浩史（昭和薬科大学 薬物動態学研究室）

〒194-8543 東京都町田市東玉川学園3-3165 tel：042-721-1406 e-mail：hyamazak@ac.shoyaku.ac.jp

## 共同研究者

村山 典恵（昭和薬科大学 薬物動態学研究室）

〒194-8543 東京都町田市東玉川学園3-3165 tel：042-721-1406 e-mail：muraya\_n@ac.shoyaku.ac.jp

清水 万紀子（昭和薬科大学 薬物動態学研究室）

〒194-8543 東京都町田市東玉川学園3-3165 tel：042-721-1406 e-mail：shimizu@ac.shoyaku.ac.jp

北島 正人（富士通九州システムズ）

〒814-8589 福岡市早良区百道浜2-2-1 tel：092-852-3131 e-mail：kitajima.masato@jp.fujitsu.com

高野 良治（昭和薬科大学 薬物動態学研究室）

〒194-8543 東京都町田市東玉川学園3-3165 tel：042-721-1406 e-mail：takano.r@jp.fujitsu.com

## 研究内容要旨

個々の化学物質ごとに構築されるべきPBPKモデルの手法を、より広範な化学物質のリスク評価へと応用できるような、簡便で、重点化され、かつ汎用性の高いモデルへ展開させる試みを実行してきた。ヒト生体を、吸収、代謝および全身循環の3つのプロセスから構築した本モデルは「PBPK Model Simulator」ソフトウェアとして一般社団法人日本化学工業協会に加盟する各研究者が容易に取り扱うことができるように試作と改良を重ねてきた。PBPK Model Simulatorは、ラット、マウスおよびヒトに経口、静脈注射および吸入経路より暴露される化学物質濃度と生体内濃度を相互に計算予測することができる。アセトアミノフェンのように、ヒト肝固有クリアランス値がヒト肝血流速度より高値を示す場合には、消失過程の変動要因は用いる肝酵素源よりも組込む肝血流速度が重要な因子であると推察された。モリネートおよびクロルピリフォスはいずれも親化合物のみならず、代謝物により強力な毒性が見込まれることから、代謝物についても同様に血漿中濃度から親化合物暴露量を相互に予測することで、より正確にヒトへの毒性評価が行えるものと考えられた。一般環境や製造作業環境からの暴露などより実際の状況に即した条件でヒトの体内濃度が予測されると考えられる。この双方向機能を活用することにより、バイオモニタリング情報および環境中の化合物の暴露濃度に関して、実験で得られたNOAELなどの物質あたり毒性情報を付与し、化学物質のリスク評価に役立つことが期待できる。

## 研究期間

2011年9月1日 - 2012年8月31日

## 成果発表

1. 國兼絵里子、村山典恵、塚田 藍、高野良治、北島正人、清水万紀子、池田敏彦、山崎浩史：ヒト生理学的薬物動態（PBPK）モデルの最適化のための肝可溶性画分の必要性の検証 第55回日本薬学会関東支部大会（千葉）平成23年10月
2. 塚田 藍、山下真直、村山典恵、末水洋志、高野良治、清水万紀子、山崎浩史：肥育用ステロイドホルモン剤の肝代謝消失速度の種差 日本薬学会第132回年会（札幌）平成24年3月
3. 村山典恵、山下真直、塚田 藍、末水洋志、中村雅登、高野良治、清水万紀子、山崎浩史：チオカルバメート系除草剤モリネートの代謝消失における種差の検討 日本薬学会第132回年会（札幌）平成24年3月
4. 清水万紀子、曾田重人、末水洋志、村山典恵、中村雅登、山崎浩史：ヒト肝移植マウスを用いたアセフェートの代謝消失 日本薬学会第132回年会（札幌）平成24年3月

#### 応募研究領域

2011RA03：化学物質の曝露・体内動態と生体応答を予測する手法の開発研究

#### 研究表題

産業界による自主的なリスク管理のための暴露評価手法の開発

#### 代表研究者

東海 明宏（大阪大学大学院工学研究科 環境・エネルギー工学専攻）

〒565-0871 大阪府吹田市山田丘2-1 tel：06-6879-7676 e-mail：tokai@see.eng.osaka-u.ac.jp

#### 共同研究者

山口 治子（大阪大学大学院工学研究科 環境・エネルギー工学専攻）

〒565-0871 大阪府吹田市山田丘2-1 tel：06-6879-7677 e-mail：h.yamaguchi@em.see.eng.osaka-u.ac.jp

#### 研究内容要旨

化学品管理に対する法規制や産業界の自主的取組が進むにつれ、化学物質の全ライフサイクルを通じたリスク管理が推進されてきている。さらなる化学品管理の発展にむけ、効果的なリスク管理を行うためには、化学物質の暴露に関する時空間的変動や推定誤差を確率論的推定する暴露評価ツールが必要不可欠となる。

そこで、本研究では、サプライチェーンの中でリスクが最も高いと想定される労働作業場に焦点をあて、産業界の自主管理を支援するための暴露評価モデルを開発することを目的とした。欧州で開発された労働暴露評価モデル（ART）を参考に、公表されている日本のデータを用いて日本の化学品取扱い現場における暴露評価のプロトタイプモデルの開発と検証を行った。

#### 研究期間

2011年9月1日 - 2011年8月31日

#### 特記事項

第1回日本化学工業協会新LRI研究報告会にて発表 「産業界による自主的なリスク管理のための暴露評価手法の開発」



発行所の許可なく本書の一部または全部の複写・  
複製・転記載・磁気媒体への入力等を禁じます。



## Annual Report 2012

### 一般社団法人 日本化学工業協会

LRI 事務局 担当/大島健幸・熊本正俊・味方和樹・一鬼勉・築瀬亙一・黛芳美  
〒104-0033 東京都中央区新川1丁目4番1号(住友不動産六甲ビル)

TEL.03-3297-2575 FAX.03-3297-2612

URL : <http://www.nikkakyo.org/>

LRI 専用 URL : <http://www.j-lri.org/>

