第1回 石油製品需給適正化調査等「石油精製物質等の新たな化学物質規制に必要な国際先導的有害性試験法の開発（研究開発項目② 肝臓毒性、腎臓毒性及び神経毒性 in vitro 試験法の開発）」
終了時評価（事後評価）検討会

議 事 録

1. 日 時 平成28年12月15日（木） 14:00～17:00

2. 場 所 経済産業省別館2階 238各省庁共用会議室

3. 出席者

<検討会委員>（敬称略・五十音順、※は座長）

尾崎 倫孝 国立大学法人北海道大学 大学院保健科学研究所 教授

小澤 岳昌 国立大学法人東京大学 大学院理学系研究科化学専攻 教授

庄野 文章 一般社団法人日本化学工業協会 常務理事

寺岡 宏樹 学校法人酪農学園 酪農学園大学 獣医学群 教授

※堀井 郁夫 堀井サイエンスアソシエイト株式会社 代表取締役社長
東京理科大学薬学部 客員教授

<研究開発実施者>

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
安全性予測評価部 第二室 室長（プロジェクトリーダー）

押村 光雄 国立大学法人鳥取大学
染色体工学研究センター 特任教授（テーマリーダー）
公益財団法人鳥取県産業振興機構
とっとりバイオフロンティア 研究総監

大林 徹也 国立大学法人鳥取大学
生命機能研究支援センター 動物資源開発分野長 准教授

中島 芳浩 国立研究開発法人産業技術総合研究所 健康工学研究部門
細胞光シグナル研究グループ 研究グループ長

斎藤 幸一 住友化学株式会社
先端材料開発研究所 上席研究員

鈴木 紀之 住友化学株式会社
生物環境科学研究所 解析科学グループ 主席研究員

小林久美子 住友化学株式会社
生物環境科学研究所 細胞科学グループ 主席研究員

田中 憲穂 一般財団法人食品薬品安全センター 秦野研究所
研究顧問

山影 康次 一般財団法人食品薬品安全センター 秦野研究所
研究開発部 部長

山崎晶次郎 一般財団法人食品薬品安全センター 秦野研究所
研究開発部 研究開発室 研究員

佐々木澄志 一般財団法人食品薬品安全センター 秦野研究所
安全性事業部 安全性評価室 研究員

若栗 忍 一般財団法人食品薬品安全センター 秦野研究所
食品衛生事業部 食品衛生企画室 研究員

片寄 佳人 公益財団法人鳥取県産業振興機構
バイオフィロンティア推進室 室長 兼
とっとりバイオフィロンティア施設長

岡島 加奈 公益財団法人鳥取県産業振興機構
バイオフィロンティア推進室 副室長 兼
とっとりバイオフィロンティア副施設長

<事務局>

製造産業局化学物質管理課

企画官 奥村 浩信
課長補佐 山野 慎司
専門職員 西田 善行

<評価推進課>

産業技術環境局技術評価室

課長補佐 松島 隆男

4. 配布資料

- 資料1 石油製品需給適正化調査等「石油精製物質等の新たな化学物質規制に必要な国際先導的有害性試験法の開発（研究開発項目② 肝臓毒性、腎臓毒性及び神経毒性 in vitro 試験法の開発）」終了時評価（事後評価）検討会委員名簿
- 資料2 研究開発評価に係る委員会等の公開について
- 資料3 経済産業省における研究開発評価について
- 資料4 評価方法（案）
- 資料5 石油製品需給適正化調査等「石油精製物質等の新たな化学物質規制に

必要な国際先導的有害性試験法の開発（研究開発項目② 肝臓毒性、腎臓毒性及び神経毒性 in vitro 試験法の開発）」の概要

資料6 評価用資料

資料7 石油製品需給適正化調査等 「石油精製物質等の新たな化学物質規制に必要な国際先導的有害性試験法の開発（研究開発項目② 肝臓毒性、腎臓毒性及び神経毒性 in vitro 試験法の開発）」技術評価結果評価書の構成について（案）

資料8 評価コメント票

質問票

参考資料1 経済産業省技術評価指針

参考資料2 経済産業省技術評価指針に基づく標準的評価項目・評価基準

参考資料3 平成25年度中間評価報告書（概要版）

参考資料4 「石油精製物質等の新たな化学物質規制に必要な国際先導的有害性試験法の開発」基本計画

参考資料5 事業成果詳細

5. 議事概要

(1) 開会

事務局より、出席検討会委員・研究開発実施者・事務局の紹介が行われた。

議事に先立ち、委員の互選により、堀井委員が本検討会の座長に選出された。

(2) 研究開発評価に係る委員会等の公開について

事務局から、資料2により、評価検討会の公開について説明がなされた後、本評価検討会について、会議、配付資料、議事録及び議事要旨を公開とすることが了承された。

(3) 評価の方法等について

事務局から、資料3、4、7、8により、評価の方法等について説明がなされ、了承された。

(4) プロジェクトの概要について

研究開発実施者及び事務局から、資料5により、本プロジェクトの概要について説明がなされた。

主な質疑応答は以下のとおりである。

【1. 当省（国）が実施することの必要性】

質疑応答無し

【2. 事前及び中間評価の結果】

質疑応答無し

【3. 事業の概要】

○尾崎委員：初めて参加させていただいておりますので、本プロジェクトの目的を教えてください。今説明がありましたように、マウスやラットを用いて28日間反復投与して、いわゆる毒性をみるということは我々もよくしているのですけれども、例えば、そういった場合のマーカーというのは組織標本であったりとか血液の生化学的な検査であったりするわけです。そういったものをより短期間に細胞レベルでみる、細胞レベルでわかればよいというのが本プロジェクトの目的ということでよろしいでしょうか。

○小島PL：その通りでございます。細胞を用いた試験系で、できるだけ動物実験を使わずに、かつ短期間で安価に毒性を評価することを目的としております。

○堀井座長：尾崎先生ありがとうございました。

○堀井座長：それでは、次に移らせていただきます。3-4、研究開発の実施・マネジメント体制等についての説明、これは鳥取大の押村先生、産総研の中島先生、食品薬品安全センターの山影先生、それと鳥取大の大林先生、住友化学の小林先生と順次あると思うのですが、委員の先生方からの質問およびその応答につきましては、発表の途中でやられたほうが良い場合があると思いますので挙手して頂ければと思います。

【4. 研究開発の実施・マネジメント体制等】

(基盤技術の開発)

○堀井座長：ありがとうございました。肝毒性に入る前に質問、コメント等がございましたら、いかがでしょうか。32のコンセプトのところですけども、ハイスループット化するというコンセプトが右と左に書かれてありますが——あれは分けているのかどうかわからないのですけれども、左にあるものは、まさしく毒作用が起きるときの発現が、いろいろなものが重なって出ますね。それにあるものを全部あげて、簡便性ではなくて、そういうものもターゲットにしているという意味でよろしいですか。

○中島（産総研）：済みません。ここの説明を省いてしまったのですけれども、個別に今までいろいろみているものを、できるだけたくさん複数みようというようなものが、今回の一つのコンセプトであるということと、あとは、ご存じのように株化細胞を使えば簡便なのですけれども、個体を反映しにくかったりと、どちらも長所・短所があるので、お互いの長所をできるだけとれるような細胞系にしたいですねというのがコンセプトです。

○堀井座長：バリデートも可能であるということですね。それが原則だと思います。

それで、右のほうに書いてあるものは、いわゆるマクロと生理学的なものとか、ヒトへ

の外挿性というようなことを大きくみた形の要素も入れたいということで考えられているわけですね。

○中島（産総研）：そうです。

○堀井座長：わかりました。ありがとうございました。

○小澤委員：東京大学の小澤です。2点質問させていただきたいと思います。1つ目は、1細胞ではなくて、今マルチな細胞を用いておりますけれども、そのマルチの細胞で多数の染色体にレポーターを同時に導入する意義ということが、必ずしも正確に理解できませんでした。例えば、1細胞の個性を理解するために複数のレポーターを導入して、そして個々の1細胞の3色の遺伝子の働きを観測するというのであれば、3種類のレポーターの働きを1細胞でみる意義はあるかと思いますが、今の場合は、多数の細胞をアッセイしていますので、結果的には1つのレポーターを導入して3種類のレポーターの働きをそれぞれ観測しても、得られる結果は同じなのではないかと思いますが。あえてこの3つのレポーターを1細胞に入れる意義というものについてご説明いただけますか。

○中島（産総研）：実際は、この後でそれぞれの系で説明があるのは最大2種類ではあるのですが、まず2つのレポーターをみる意義ということに関していいますと、毒性で特に、1つは、内部標準としてアッセイのときに使うというのは、私は必須だと思っています。つまり、マーカー遺伝子の動きだけをみると、特に毒性に特有なのですけれども、マーカー遺伝子の上がりを見るような系でも、毒性が発現するときに上がったりするので、実は1個だけでみていると、毒が出ながら上がっているので変わらなかつたりしてだまされるときがよくあるのですね。その場合、例えば内部標準を置いておけば、内部標準は下がるのだけれども、マーカーのほうは一定なので、割り返せば、それは実際は上がっているというような計算方法になるというのがよくやられます。これは、毒性にかなり特徴的なレポーターアッセイだと思っています。

あともう1つは、マスで解析するか、シングルで解析するかということのご質問でよろしいでしょうか、意義として。結局、シングルセルの解析の毒性評価への応用というのをずっと頭の中では考えていたのですけれども、毒性のメカニズムを考えると、1個1個の細胞というのは毒性物質に対するレスポンスは多分違って、そこを解析する意義があれば、やはりシングルでみなくてはいけないのですが、今回の場合は、まずはマスのデータで化学物質がもっている毒性のポテンシャルというのを簡便に評価、つまり簡便性というのが一つキーワードになりますので、そういう意味では、今の段階では、まだマスでみた平均値をみるというような方法でいいのかなというふうには考えているところです。済みません。答えになっていないかもしれませんが。

○小澤委員：ありがとうございます。あともう1点、よろしいですか。ルシフェラーゼ、人工染色体、それぞれ日本発のすばらしい技術を組み合わせて今回の毒性試験に応用するという、その発想と実現はすばらしいと思いますが、その先の提案の中で、最後に国

際的な標準化というところが、つながらない印象があります。それはどういうことかと申しますと、例えばルシフェラーゼに関していえば、海外からもいろいろ新しいものが出てきておりますし、それから、レポーターなどに関しましては、今、遺伝子操作、CRIPR/Cas9 とかをを用いた技術も応用できるかと思えます。そういった技術を組み合わせた場合に、国際標準化するためには、やはり今、この人工染色体と日本発のルシフェラーゼが既存の技術に対して凌駕するだけの何かアピールポイントがないといけないと思えますが、そのあたりはどのようにお考えですか。

○中島（産総研）：この標準化については、ちょっとご説明できなくて申しわけなかったのですが、もっとジェネラルに、例えばルミノメーターを使って皆さん測定をする場合に、その装置の校正方法であるとかリニアリティの確認というのをやりましょうねというような提案すらないわけですね。今回、私たちが提案するものは、人工染色体ベクターとか我々のレポーターに限った話ではなくて、細胞を使った生物発光の測定方法という、広いことに関して、まさに我々が実際にレポーターアッセイをするときの方法論全般について、何かしらの計量学的な概念を導入するような提案をしようという試みをしております。

○小澤委員：今回、開発する細胞に限らず、一般的な発光測定というものの規格化をしていくという理解でよろしいですか。

○中島（産総研）：そういうことです。

○小澤委員：わかりました。ありがとうございます。

○堀井座長：庄野委員、お願いいたします。

○庄野委員：スライドNo.43 と 44 で、発光測定条件の最適化とルシフェラーゼの発光測定の最適化をやられていまして、結局ここでの結論は一体何だったのかというのが、ちょっと私、後の議論にかかわってくると思いますので確認しておきたいと思えます。

○中島（産総研）：非常に細かい話ですが、今回、市販されているレポーターと発光試薬を使ってアッセイをするわけですが、必ずしも全部の細胞にオプティマイズできていないというのが我々のほうでわかりまして、例えば試薬を加えて細胞を潰してから発光が徐々に上がるというのが通常のパターンです。それで、この平らになったところで測り続けるというのが、発光測定の精度を決める大事なポイントなのですが、例えば今の売られているものをそのまま使っていると、添加してからフラットになるまで30分ぐらい時間がかかってしまうということがわかりましたので、界面活性剤の種類や濃度を振ってやって、できるだけ短時間で、フラットになるような条件を見つけたということになります。

○庄野委員：そうすると、ここでいうところの、この段階のレベルをもっと早くもってくるための条件として、最終的にこちら側がいいのですか、こちら側がいいのですか。要するに、どういう条件で一番最適なプラトリーな領域までもってくるかというところを検討されたのだと思うのですが、それは最終結論が出ているのですか。

○中島（産総研）：これは、ある濃度のブリッチというディタージェントを加えて、例えばA9細胞だったりとか、ほかのES細胞を測るといいですよというのを各 vitroのチームに情報をバックしているということです。ちょっと細かい話で申しわけないのですが。

○庄野委員：わかりました。

○堀井座長：それでは先に進めさせていただきまして、肝毒性のほうをお願いします。

（肝臓毒性 in vitro 試験法の開発）

○堀井座長：ありがとうございました。今の肝毒性のところに関しまして質問、コメントがございましたらお願いします。いかがでしょうか。

○尾崎委員：北大の尾崎でございます。非常にすばらしいアイデアで、いわゆる生きた細胞を2つのベクターを使って標準化するとともに、死んでいく細胞（いわゆるネクロシスというようなりティックなタイプの細胞死）を、最後のところ（最終段階の細胞現象）で評価している方法だと思っております。それで、細胞死には幾つかのパターンがあると思うのですが、確かに、ノンリティックなタイプというのは肝毒性として、きょう最初に質問しましたように、いわゆる我々がやるマウスの動物で30日のときに評価するLDHとかγ-GTPで余り評価されない部分だと思えますし、こういった細胞の評価というのは、当初の目的に合った方法なのだろうというふうに関心いたしました。

これを実際に国際化といいますか、ほかの方々が使う場合に1つ心配なのは3次元培養がよろしいというようなことなのではございますけれども、3次元培養というのは、なかなか実際に維持するのが、あるいは同じクオリティで細胞をずっと飼っていくのは難しいのではないかと思います。そこはいかがでしょうか。

○山影（食薬C）：ご指摘のとおり、我々も非常に苦労して、現在は安定したデータがとれるようになっておりますので、ある程度の訓練は必要であろうということと、生存率の高い細胞を得ることがポイントにはなってくると思うのですが、今検討している凍結法をいろいろ工夫して、非常に良い肝細胞を供給することによって、実験する方々が良い細胞で試験ができるようになればと、検討しているところです。

○尾崎委員：我々も1980年代ぐらいですか、スフェロイドタイプの培養というのは肝臓でよくやっていたのですが、なかなか技術的にといいますか、個人の技術の話もあるのかなというふうに思ったりもしました。ちょっと、この研究のスタンスでお伺いしたいのは、例えばアストアミノフェンの毒性の評価というようなところがあって、私は臨床家でございますので、風邪薬を投与するときに、幾ら肝毒性があるとわかっていても投与すると、100人投与しても、ほとんど毒性が出ないことが実は多いわけです。例えば1,000人で数人ということだと思っておりますけれども、今回の評価でいうと、個別の評価というようなことよりも全体的な評価、フォールス・ポジティブが出て

もいいといえますか、あるいは可能性があるものを大きくざくっととってくるというようなスタンスでのスクリーニングというのですか、そういう評価ということによろしいのでしょうか。

○山影（食薬C）：そのとおりだと思っています。医薬品の場合はそれぞれのヒトが対象ですが、化学物質の場合には、曝露されたときにそういう性質があるかが大事になりますので、そういう意味で、どのくらい長期間曝露すると肝毒性を示すかということも考慮できるこの試験系を使い、化学物質のハザードを検出することが目的になると思います。

○尾崎委員：最後に、これはお願いなのですが、今回のアッセイというのはマウスの細胞系を使っているというようなことかと思えます。それから、途中でHepG2だとかヒトの細胞でも腫瘍細胞株を使われていたようですので、できれば手術標本等からとってきたヒトの非がん細胞でこういった系がつかれないかどうか、そういったことが検討できればいいのではないかと思いました。

○山影（食薬C）：ありがとうございます。

○堀井座長：ほかに。庄野先生。

○庄野委員：1つ簡単なことでございます。素晴らしいお仕事だろうと思うのですが、1つ気になりましたのは、いわゆるポジティブの判断といえますか、初期の段階はIC50のレベルから2000以下の段階になるかどうかという判断でみられていて、ただ、これで見ると、3-ビス(プロモメチル)、1, 3-プロパンジオールでは2000からちょっと下がっている話ですね。ですから、ここは理論的に2000という数字を置いておられるのは、何かそれなりの合目性というか、そういうものがあってのことでしょうか。というのがちょっと気になりました。

○山影（食薬C）：1つは、ほかのin vitroの試験系の中で、国際標準化されているガイドラインの中に2000という数字が出てきたということがあります。もう1つは、どこで線を切るかというのは我々自身も悩みましたが、データから2000を選択したということになります。

○堀井座長：ほかにございますか。今、尾崎先生もいわれたのですが、アセトアミノフェンの毒作用を一般的な形でみた場合でも、実に複雑でまだメカニズムがよくわかっていなくて、医薬品からみると、キノンイミド体ができないとグルタチオンの枯渇が起きないので毒性が評価できない。でも、細胞レベルでやっている場合、この前の中間報告のときにもちょっとコメントしたのですが、最後は、やはりアルブミンというものを対象にみていつている。やはり動きとして、肝臓としては、私としてはいいエンドポイントのところだけはずっと残されたなと思います。これは感想です。

○山影（食薬C）：ありがとうございます。

○寺岡委員：60番ですが、ちょっと勘違いしているのかもしれませんが、各グラフの右に出ている1、2、3というのは培養維持日数ではないかと思うのですが、何

か、だんだん反応性が低くなっていると思うのですけれども、これは、アッセイするときには特に問題はないのでしょうか。

○山影（食薬C）：この系の良いところは、生存している細胞を経時的に評価できるということですが、長く曝露していくと、どうしても細胞も死んでいきますので、そういう意味で、発光レベルの低下というのがありますので少し下がるということもあるのだと思いますが、相対値で出しておりますので、大丈夫ではないかと思えます。

○寺岡委員：すみません。勘違いでした。

○中島（産総研）：ちょっと補足させていただきますと、各測定日のコントロールの発光強度に対して、各濃度を曝露した細胞の発光強度はどうかという出し方になっています。各コントロールの発光強度は十分にディテクタブルな光の強さが出ています。つまり、細胞は確実に生きていますので、各日付のデータは、かなりしっかりしたものになっています。

○寺岡委員：ちょっとしつこいのですが、これは細胞を培養していて、例えば10日とか13日目になってから濃度を振ってかけたということではなくて、ずっとかけっぱなしにして、それで濃度依存性をみたということによろしいですね。わかりました。

もう1つですが、65番です。そんなに問題ではないのかもしれませんが、ネガティブ・プレディクト・バリューがやや低いような感じがあるのですが、これは、特に何かありますでしょうか。

○山影（食薬C）：これは、やはり *in vitro* の試験系の欠点だと思うのですが、動物の場合には、投与されてから体内に分布したり排泄したりというプロセスを経て毒性を示しますが、*in vitro* の系はダイレクトに細胞に対して曝露していますので、どうしても検出感度が高くなるので、ネガティブなものも陽性になる確率が高くなっていると思えます。

○堀井座長：では、次に移りたいと思えます。腎毒性のほうをよろしく願います。

（腎毒性 *in vitro* 試験法の開発）

○堀井座長：ありがとうございました。何か質問とかございますでしょうか。

○尾崎委員：2つほど質問させていただきたいのですけれども、最初にお示しいただいたKS細胞を使った系ですが、これは、いわゆる近位尿細管とボウマン嚢が形成されるという話なのですが、糸球体自体はないモデルですね。

○大林（鳥取大）：糸球体は、ちゃんとできていないです。

○尾崎委員：我々は、いわゆる腎障害というと、基本的に糸球体と近位尿細管、特に急性腎不全だとか急性腎障害は、もちろん近位尿細管だと思うのですが、慢性障害というと、どうしても糸球体の方というようなイメージがございますので、そういう意味では、組織化しているとはいえ、やはり尿細管の評価というような系でよろしゅうございますでしょうか。

○大林（鳥取大）：そこが限界だと思っています。その課題はあるので、これを内皮細胞とかと共培養して血管をつくり出すとか、そういうことを次のテーマとして今やろうとして検討しているところです。

○尾崎委員：もう1つだけ、関係する質問ですけれども、例えば、この先生がつくったKS細胞の系と通常の近位尿細管の細胞株を比べたときに、先生の研究のメリットというのは組織上の形になっていて、体積といえますか、そういった量的な評価ができるというところになるのでしょうか。

○大林（鳥取大）：今、動物実験のような病的な所見で形態的变化をみることも試していて、切片をつくって染めてどうかということを行っています。in vitro で作製した組織様構造体で病理試験ができるということが1つ。

もう1つは、今日は示していませんけれども、S3細胞とこれだと、化学物質の反応性が違うんですね。やはり、こちらの方が成熟していて、トランスポーターとか何かが生体に近いようです。そういう意味で、S3細胞で捉えられなかったものが、こちらで捉えられるというところがあると思っています。

○堀井座長：まさしく尾崎先生と同じ疑問というか、感度の点で気になったのですが、いわゆる病理細胞学的にみた場合に、尿細管の上皮というのは変性という形で、意外と簡単にみられるのです。その感度が、この方法での感度と病理細胞学からみたときの感度というのは、ひょっとしたら変わらないかもしれない。それで、ここで提示されたものがより高い感度がいいのかもしれないという狙いはあるのでしょうか。

○大林（鳥取大）：今、これに関しては、実験病理をやっている研究者が鳥取大学に来てやっていて、動物実験の病理と全く同じではないけれども、一部では同じことが起きています。例えば近位尿細管に死細胞が詰まってくるということは観察されています。今後より詳細な検討を行っていかなければいけないのですけれども、一部は生体を模した形でできていると思っています。

○堀井座長：今後の展開に期待しておきましょう。よろしいでしょうか。寺岡先生お願いします。

○寺岡委員：スライド83番ですけれども、また、ちょっと見方を教えていただきたいのですが、これだと細胞死が起きる濃度のほうが低濃度にみえるのですけれども、そのあたりというのはいかがでしょうか。

○大林（鳥取大）：Kim1の上昇は細胞死が起きてから観察されます。

○寺岡委員：HPRT-SLGは細胞死ということで、内標だというふうに言われましたけれども、落ちているのは細胞死をあらわしているといわれましたね。それが、明らかに落ちているような濃度をかなり超えて、2.5ぐらいからKim1が上がっているようにみえるのですけれども、これは見方が悪いのでしょうか。

○大林（鳥取大）：やはり、この辺の濃度だと細胞が大分ダメージを受けているようです。細胞は死んでしまうのですけれども、むしろ薄い濃度のときにKim1が上がらない

という感じです。これは、時間とかいろいろもっと検討しなければいけないのですけれども、この条件だと、細胞が死ぬぐらいのときでないと Kim1 は上がっていないという感じです。

○寺岡委員：わかりました。

○堀井座長：よろしいでしょうか。

(神経毒性の in vitro 試験法の開発)

○堀井座長：どうもありがとうございました。ご質問、コメント等ございますでしょうか。

○小澤委員：93ページのハイコンテンツのイメージングの技術に関しまして質問させていただきたいと思います。2000年のころに環境ホルモンに関して非常に議論がありまして、そのときにJSTでも、環境ホルモンのスクリーニング法などを対象とした研究が盛んに行われておりました。そのときに環境系の先生が、これと同じようなことをされておりまして、やはり同じようなアッセイ系のプロトコルの作成をしたいということで議論がございました。私が覚えているのは、このハイコンテンツでイメージングしたときに、確かに神経の突起の長さだけではなく、例えば伸びる方向とか、軸索そのものの太さであるとかいろいろなファクターがあって、何の指標をもって毒性を評価するのかということが非常に盛んに議論されておりました。今の場合、縦軸のとり方が、私は正確にはわかりませんが、突起の長さの指標だけで十分なのかどうかということについてコメントをいただけるとありがたいと思います。

○小林（住友化学）：ここで示している縦軸は1ウエルあたりの神経突起の長さの総和です。ハイコンテンツ解析をすると、ほかに、例えば神経突起の分岐点の数だとか、細胞体から何本突起が出ているかなど、いろいろなパラメーターの結果が同時に出てきます。確かに多くのパラメーターの結果が出てきますが、今回はスクリーニングであり、多くのパラメーターを用いると煩雑になるため、メジャーなパラメーターを1つか2つに絞って行いたいということがありました。この試験系は、ご指摘のとおり、昔からやられており、これに関する報告も多くあります。EPAの研究者たちなども発表しており、神経突起の長さ、あるいは突起の総面積といったものを1つのパラメーターに選択して、試験系開発を進めています。こういう背景から、当研究においても、神経突起の長さを指標として進めてきました。

○小澤委員：これは今、細胞体の数とかで規格化しておりますか。

○小林（住友化学）：細胞体の数をカウントしていますが、青が生存神経細胞の細胞体で、赤が死細胞の細胞体です。

○小澤委員：それで、縦軸を求めるときに細胞体の数か何かで割らないと、データをとるエリアによってばらつきが随分違うのではないかと思います。何を対象に規格化しているのでしょうか。

○小林（住友化学）：96ウェルのプレートの中央のところの16マスに存在している神経細胞突起総和をカウントしています。96ウェルに同じ数だけ細胞をまいていまして、すべてのエリアでカウントするというのも考えましたが、96ウェルにまきますと、表面張力でウェルの中央と端っこで細胞の密度が変わります。そのあたりを検討した結果、なるべくウェル内で均一に細胞が並ぶよう培養条件を確立し、中央の16マスの一定面積の場所で評価するようにしています。

○庄野委員：92のスライドですけれども、一般論で非常に恐縮ですが、我々、産業界サイドでもそうなのですが、やはり、こういうコリレーションといいますか、一定のセンシティブティが非常に高い中で、我々が興味あるのは、むしろ外れているものでして、外れているのが、なぜ外れるのかということについては、特にこの神経毒性の分野では余り我々も議論したことはなかったのですが、この辺はどう——これは、ちょっとフェニトインは外れていますけれども、これはまた別の意味だろうと思うのですが、この外れているのは、なぜ外れたというのはいかなる理由解析みたいなことは考えられていますか。

○小林（住友化学）：ワーファリンにつきましては文献調査をしたところ、ヒトでは催奇形性ポジと報告があるのですが、ラットやウサギやマウスにおきまして、*in vivo*の試験において毒性がなかったという報告がありました。種差による感度の違いによる可能性があると考えております。

あと、よく外れるケースとしては代謝の問題があり、これは *vitro* の系ですので代謝物が影響を及ぼす場合は外すこともあります。ですので、先行しています Hand1-Luc-EST においては、代謝の影響を加味した試験系で確度を上げていくような検討も行っております。

○庄野委員：*vivo* と比較する場合、BBBとの関係性みたいなものは議論されたことはありますか。ブラッドブレインバリアというか。

○小林（住友化学）：それは今後の課題と考えており、インシリコの手法を用いて組み合わせながら確度を上げていきたいと考えております。

○庄野委員：ありがとうございました。

○堀井座長：この神経毒性に関しましては、中間報告のときには非常に難航していたところがありましたが、発達ステージごとに神経毒性の評価方法を取り入れることで、ある程度みえるようになったのは、成果だと思っています。特に、毒性試験の中で *in vitro* を入れるということに関して、そこのところが一歩前に進めたのは、この発達のステージごとに物がみれるということをやったことであり、評価できるかなと思っています。

○小林（住友化学）：ありがとうございます。

【5. 事業アウトプット】

【6. 事業アウトカム】

【7. 事業アウトカム達成に至るまでのロードマップ】

【8. 費用対効果】

○堀井座長：それでは、アウトプット、アウトカム、ロードマップ、費用対効果につきまして、何かコメント、ご質問がありましたら、いかがでしょうか。

○小澤委員：106ページの共通指標の実績というところに特許とありますけれども、これは特許の出願件数ですか、取得件数ですか。

○押村（鳥取大）：出願件数です。

○堀井座長：あとはよろしいでしょうか。ありがとうございます。そうしましたら、一応3-8まで全部終了いたしました。あと事務的な話が残っているわけですが、その前に、各先生から全般的な意見とかコメントがありましたら順次お願いしたいのですが、まだ時間がありますので。

○小澤委員：先にお願ひできますか。少し頭の中を整理しておきますので。

○尾崎委員：実は最初の研究の進め方とか目的というのですか、私も、実は外科医だったのですが薬をつくって失敗した経験があります。30日間の反復投与したときの毒性をとということを最初に述べられていて、今回の研究というのは、多分それをかなり超えたところを目指してやっている研究と思います。例えば30日間投与して肝障害、腎障害というのは、普通は組織切片をみて、血液検査をみてというようなことでやっていると思うのですが、それより、かなり予測をするようなところまで進められているというようなことが技術革新なのかなと思いました。

それで、折角ですので1つお聞きしたいのは、押村先生が最後におっしゃられた、こういった技術開発で変わったところというのは、例えばがんの治療だとか、HepG2というのはヒトのがん細胞なわけですが、実際に臨床でのがんの治療だとか、そういったことにも応用可能なのか。人工染色体というのは *in vivo* で動物等に肝臓にだけ入れることができるのか、そういった技術の可能性があるかとか、あるいは現状はどうなのでしょうか。

○押村（鳥取大）：人工染色体の特徴というのは、たくさんのファクターを入れることができるということですね。したがって、がんということに限っては、例えば、私たちの例で脳腫瘍の周辺に人工染色体を導入した間葉系幹細胞（MSC）を打ちますと腫瘍に集まっていく。その後、ある薬品で処理して毒性を出るように仕組んでいて、MSCをどんと殺してしまうと、その周辺にあった脳腫瘍がみんな死んでしまうという例を論文にしました。しかし、がんの中にいきなり人工染色体を入れるということは、なかなか導入効率が悪いのでできません。だから、*in vitro* の中で何か細胞を仕組んで、それから体内に入れるとかです。もう一つの例は、ALSに関して我々は、MSC細胞の中に、神経細胞を保護するようなファクターを3つか4つ持つ人工染色体に入れておいて、それで神経細胞を保護しました。だから、そういう意味では、いろいろな工夫が人工染色体にできるというふうに思って、がんや遺伝病に対する人工染色体の有効利用は将来的な問題だと思います。

○尾崎委員：どうもありがとうございました。この技術は素晴らしいと思いますので、いろいろな方面に広げていただきたいと思います。

○押村（鳥取大）：ありがとうございます。

○庄野委員：日本化学工業協会の庄野ですけれども、産業界の立場からちょっと、今回、非常に私どもとして、この仕事に対して敬意を表したいと思います。

本来なら奥村さんからお話が出るような話なのですが、今、一般工業化学品、いわゆる化審法で対応する化学品というのは、世の中に7400万トンが日本国内で出ているわけです。そういった意味で、これらの既存の化学物質の評価・点検というのは、非常に追われているという状況なのですが、なかなか先ほどいいましたようなコスト試算からしても、そんなたくさんのお金を一挙にかけることができない。そういった意味では、優先評価あるいはこういった実際の毒性評価という意味では、非常に今回、皆さんが開発していただいている技術というのは素晴らしいものだろうと私は思います。これをぜひ、先ほどもちょっとありましたけれども、薬物動態とかいろいろな要因と組み合わせ、きっとより素晴らしいシステムが構築できるのではないかと思いますので、そこは、ぜひ頑張って頂きたいと思います。最後をお願いですけれども、これはどんどん国際的に発信していただいて、むしろ日本が世界をリードするぐらいの形にもっていきけるのではないかと思いますので、ぜひそこも頑張っていただきたいと思います。ありがとうございました。

○小澤委員：いろいろと貴重なお話をありがとうございました。私はいつも、どちらかというと、そちら側の立場で厳しいコメントを受けておりますが、どうしても限られた期間では成果至上主義で数値目標を達成しているかどうか云々ということになりがちであると思います。しかし、本当に大事なことは、まず日本発の技術で本当に使えるものとなるかどうか、スタンダードとなるかどうか、そういった方法が、この先提唱できるかどうかという点を見極めることが、こちら側の評価のポイントになると思います。そういった意味で、余り無理に数値目標を達成するためにまとめるということよりは、継続してこれから実用レベルまで引き上げるように、十分なポテンシャルはお話を伺いまして感じ取ることができましたので、頑張っていただきたいと思います。

○寺岡委員：大変素晴らしい取り組みの内容をお教えいただいて、評価委員というよりも、きょうは本当に勉強をさせていただいたということで、まずはお礼を申し上げます。

ちょっとこれはスケジュールの関係で仕方がないのだと思うのですが、やはり国際化に向けての取り組みというところのご説明が、時間の関係がよくわからないという印象がありましたので、できればそのあたりについて、いつか教えていただける機会が今後できればと思っております。

それから、これは何ともあれなのですが、こういった取り組みで国際的に発信することで考えられていて、OECDプロトコルを目指されているのかもしれませんが、国家プロジェクトでされていたものが、いろいろな機関にどれぐらい浸透し

ているかというのが、ちょっと自分にはイメージがないので、ぜひ、これが広く用いられるようなことを強く推進していただければなというふうに、これはお願いしたいということでお話させていただきたいと思います。どうもありがとうございました。

○堀井座長：まとめになるかどうかわからないのですが、中間報告のときから関与させていただいていたのですけれども、中間報告のときにはいろいろなコメントがあって難しいハードルもあったと思うのですが、今回は思っている以上に、例えば現在の科学の中で、その科学的技術をよくみると、現在の科学技術の中心にあり先頭に立っているような技術、評価方法であるというふうに考えられます。

エンドポイントの設定も、初めはちょっと不鮮明なところもあったのですが、非常にそれがユニークな方法の展開がきちんとやれた。その展開のためにいろいろあると思うのですね、エンドポイント設定には、ハイスループット化に関しても、実用性に対する現実性が非常に帯びてきた。ただ、これから、出てきた結果を化学物質としてもその有害性評価の解釈とか位置づけをちゃんとしなければいけない。というのは、対面している対象が社会でもありますし、環境でもあるし、ヒトとかそういうことに関してどういう影響がある有害性の重要性のグレーディングをつけるとか、そのために、やはり最終的にはその評価法が役立つなければいけないと思われるのです。その位置をちゃんとみる方向に行くためには、やはりほかにいろいろなデータベースがありますし、それとの関連もいつかつけていかないと自分たちだけの判断になってしまう。この点をなければいけないのと、あとメカニズムに対して、いわゆる有害作用が起きるメカニズムをみることがないとエンドポイントを置いても意味がないということが、次の発展性に繋がるのではないかと思います。この点に関しては押村先生の一番最後のスライドに示されたので、このコメントに対しては解消されたのですが、やはりAOPとか、今OECDでもどこでも問題になっているアドバース・アウトカムパスウェイ解析に繋がるものであって欲しいと思います。これ自体を考えないと、システムズトクシコロジーとかの関係で、やはり評価系の中にバイオマーカーとかエンドポイントがその中に散らばっているだけなので、そこのところをつなぐようなシステム化が望まれます。期待される絵だけではなくて、それが現実的に結びついていくというのが将来の展望として考えられると思います。

ただし、今回の評価方法の中には、それは決して含まれているわけではないので評価が下がるわけではないのですが、その先にあるところは、やはり希望をもってみたいというふうに考えております。

(5) 今後の予定について

追加の質問の提出期限を12月20日、また評価コメント票の提出期限を平成28年12月22日とすることを確認した。また、第2回評価検討会を平成29年1月中

旬過ぎに開催予定とした。

(6) 閉会

以上