

第2回「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（① 反復投与毒性試験と遺伝子発現変動による発がん性等発現可能性情報の取得手法の開発）」終了時評価（事後評価）検討会

資料1

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① 反復投与毒性試験と遺伝子発現変動による発がん性等発現可能性情報の取得手法の開発）」終了時評価（事後評価）検討会
議事録（案）

1. 日 時 平成28年10月31日（月） 14:00～16:40
2. 場 所 経済産業省別館1階 104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）

油谷 幸代 国立研究開発法人産業技術総合研究所
企画本部総合企画室 企画主幹
創薬基盤研究部門 主任研究員

※今井田克己 国立大学法人香川大学 医学部長
病理病態・生体防御医学講座腫瘍病理学 教授

庄野 文章 一般社団法人日本化学工業協会 常務理事

津田 洋幸 公立大学法人名古屋市立大学 特任教授

山田 弘 国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所
トキシコゲノミクス・インフォマティクスプロジェクト
プロジェクトリーダー

<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）

今田中伸哉 一般財団法人化学物質評価研究機構
安全性評価技術研究所 所長（テーマリーダー）

武吉 正博 一般財団法人化学物質評価研究機構
安全性評価技術研究所 副所長

赤堀 有美 一般財団法人化学物質評価研究機構
安全性評価技術研究所 研究企画部 副長

中井 誠 一般財団法人化学物質評価研究機構
安全性評価技術研究所 研究第一部 部長

齋藤 文代 一般財団法人化学物質評価研究機構
安全性評価技術研究所 研究第一部 課長

松本 博士 一般財団法人化学物質評価研究機構
安全性評価技術研究所 研究第一部 副長

渋谷 淳 国立大学法人東京農工大学大学院
農学研究院 動物生命科学部門 教授

<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 村田 博頭

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① 反復投与毒性試験と遺伝子発現変動による発がん性等発現可能性情報の取得手法の開発）」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① 反復投与毒性試験と遺伝子発現変動による発がん性等発現可能性情報の取得手法の開発）」研究開発プロジェクトの概要

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① 反復投与毒性試験と遺伝子発現変動による発がん性等発現可能性情報の取得手法の開発）」技術評価結果報告書の構成について（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。

委員の互選によって、今井田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. プロジェクトの概要】

○津田委員：今までの全部合わせての件です。発がん性のデータのサマリーをしておられて90%以上ということで、高用量ほど良いと言うのですが、低用量でやった場合、実際には低用量域が大事なのですね、ADIを決めるとか、その辺ではデータはどう出たのでしょうか。

○齋藤 (CERI)：おっしゃるとおり低用量でどの程度かは重要です。物質によっては低用量でもPVC値がプラスになるものもあれば、やはりマイナス値になるものもあります。その低用量、もしくは低、中、高と3用量とっているような物質につきましては用量反応性とPVC値との相関はいいということを確認しております。例えば、TD50との相関や、今ベンチマークドーズとの相関をみるなどして、いわゆる高用量で当たった、外れたというだけではなく、用量反応性も含めたレギュラトリーへの応用ということを今模索しているところで、かなりいい相関性が得られるということは確認しています。

○津田委員：将来的には低用量域でもある程度、確率は多分90%より下がると思うのですが、そこが大事なところなのでぜひ進めていただきたいと思います。

○齋藤 (CERI)：はい、ありがとうございます。

○津田委員：それから、これでわかるのは、発がん性についての質問ですが、動物における発がん性だけということですか？

○齋藤 (CERI)：そうです。現在のところは残念ながら、まだヒトに関することはわからないのですが、検討した中ではラットの系統差までは検討しております、F344とSDとWistarにつきましては一致率が80、90%以上示すということは確認しています。現在のところはラットをメインとした齧歯類の発がん性というところになっております。

○津田委員：例えばIARCのグループ1というのはたくさんあるわけですか？

- 齋藤 (CERI) : いくつかあります。
- 津田委員 : それについてこの動物のシステムで出るか出ないかというのは非常に大事だと思います。その相関性がぜひ知りたいと思います。
- 齋藤 (CERI) : はい、ありがとうございます。
- 津田委員 : それと、短期で遺伝子解析をやっておられて、そうするといろいろな遺伝子が動いたことで発がん性がある程度予測できるということですが、その動いた発がん性と発がんのメカニズムですね。どのような相関があるか。といいますのは、IARCでは評価基準でヒトに対するエテオロジー、それから動物の発がん性、もう一つが機序による発がん性で、実際は現在、私の知る範囲では13物質について機序でグループ1という判定がなされているのですが、そういう意味で、ここで見つかった遺伝子の動きが機序に関係していてそういうところに役に立つかどうかということですが、どんなものでしょうか。
- 齋藤 (CERI) : 今回、一例として挙げました18週間投与の結果には本当にたくさんのデータがあるのですが、現時点では確認をしましたという結果しかありません。例えば、Abcb1b 遺伝子はトランスポーターの一種ではあるのですが、発がん性を抑制するために動いている可能性もありますし、オンコジーンのような形も。いろいろと調べていますが、まだそこまでの報告はありません。例えばこういうような90日間の反復投与の試験で発現量が上がっているとかというような現象論としての報告はあるのですが、メカニズムに関するところというのはまだ知見がないというのが現状です。ですので、本プロジェクトでは14日~18週まで経時的なデータをとっておりますので、先生がおっしゃるように、この1個の遺伝子だけみてメカニズムというのは難しいにしても、そのような発がんに関係するものとどのように連動して動いているかというところは解析したいと考えております。
- 津田委員 : それが非常に大事になってくると思いますので、知りたいと思います。
- 齋藤 (CERI) : おっしゃるとおりだと思います。ありがとうございました。
- 津田委員 : このトランスポーターは何のトランスポーターですか。
- 齋藤 (CERI) : MDRです。multidrug resistance の一種のトランスポーターです。
- 津田委員 : 薬物代謝酵素ですか？
- 齋藤 (CERI) : 酵素ではなく、トランスポーターです。
- 津田委員 : タンパクですね。
- 齋藤 (CERI) : タンパクです。
- 津田委員 : タンパクの遺伝子ですね。
- 齋藤 (CERI) : はい、そうです。
- 津田委員 : ありがとうございます。
- 庄野委員 : きょう初めてこのレポートを読ませて頂いて、非常にプレリミナリーなことを質問させて頂いて恐縮なのですが、63/129ページですね。ここに発がん物質、

変異原物質の既知情報があつて、これは32物質の発がん性についてポジティブ、ネガティブが恐らく全部出ていると思いますが、これは全般的にみてこの図とそれから先ほどの発がん性、これは腎臓でもそうなのですが、要するにネガティブはやはりネガティブで出ているのですか。

○齋藤 (CERI) : ネガティブの物質もネガティブと出ています。ただどうしても偽陽性になるものもあり、例えば腎臓でしたら10物質ほどの中で偽陽性というものは2物質含まれておりました。

○庄野委員 : 例えば肝臓でいえばDMNなどはネガティブなのですね、Pが並んでいるものがありますよね。DMNなんてそうですね。

○齋藤 (CERI) : はい。

○庄野委員 : 63ページの図で行くとそうですね。こういうものはやはりネガティブはネガティブとして出るのでどうかポイントなのです。

○齋藤 (CERI) : そうです。ニトロソの一種だと思うのですが、これはニトロソの一種なのに発がん性がないという情報のものをやはり戦略的に入れたのですが、こちらはネガティブとの判定になりました。

○庄野委員 : 要するにコントロールみたいなものを別に設定しているわけではないというのではなくて、これを一応コントロールとして置いたという、ブランクとして置いたというような。

○齋藤 (CERI) : この計算をするときには媒体対照群は必ず各動物実験にはあります。

○庄野委員 : ということですか。

○齋藤 (CERI) : はい。媒体対照群に対する投与群の変化率というものを各物質すべて算出しております。例えばネガティブのものでも、投与等によって影響は受けますので、遺伝子発現量の変化が全くないということはやはりどの物質もないのですが、いわゆる発がん性予測遺伝子については変化が余らないのでネガティブというふうに予測されると、ご理解いただければと思います。

○庄野委員 : もう一つ質問です。全般的にこれは化合物の代謝的要因というのは考えられているのですか。

○齋藤 (CERI) : 考えています。

○庄野委員 : その辺はどうこれを考えられているかお伺いしたい。

○齋藤 (CERI) : 一般的ではありますが、一般化学物質ではかなりブロードに影響が出ます。例えば医薬品等でしたら非常にクリアカットと言いますか、ターゲットが絞れると言いますか、薬効も含めてそういう代謝等も比較的わかりやすいのです。しかし、例えば、今回ケーススタディで挙げました四塩化炭素などは、ラジカルを生成等があり、医薬品等の作用機序とは少し違うところがあると考えています。この部分は今回のスライドには枚数制限で入れていないのですが、四塩化炭素のMIEを調べましたところ、CYPの影響を受けてフリーラジカルを生成し、それが以降の毒性につながります。こ

のようにM_oA/AOPとして整理するときには、先生がおっしゃるとおり、どのような代謝を生体内で受けているのか等、どうしても報告が出ているものに限定はされますが、わかる範囲で調べて整理をしております。

○庄野委員：わかりました。

【2. 事業アウトカム】

質疑応答なし

【3. 事業アウトプット】

○今井田座長：先ほど質問すればよかったかもしれないのですが、評価するところで35試験中32物質とかというのが肝臓と腎臓でありましたね。あれは試験の数とあれが違うのはどういうことなのでしょう。

○齋藤（CERI）：選定したのは32物質なのですが、そのうちで麻酔法を検討するために2物質でCO₂/O₂混合麻酔とイソフルラン麻酔を実施したために2試験分プラスされています。さらに、シスプラチンになるのですが、シスプラチンは通常、静脈内投与されるのが一般的ですが、我々のプロジェクトでは強制経口投与を行うため、シスプラチンで強制経口投与と静脈内投与の2試験を行いましたので、先ほどいった2試験プラス1試験の3試験分がプラスとなって、35試験ということになっております。

○今井田座長：わかりました。ありがとうございます。

もう一点、アウトプット等で今度出てくると思うのですが、例えば未知の物質をこのプロトコルを使って評価する場合に、腎臓とか脳などは部位をそれぞれ分けてみておられますね。部位が分けて出ているのですが、腎臓などだと部位を分けたことと実際に毒性が出てくる場所の発生部位と、その辺は何か組み合わせて評価されているのですか。

○齋藤（CERI）：腎臓で部位を分けた場合、まず遺伝子発現量データとしたらベースとして8割ぐらい部位ごとで違うことは発表内で報告したのですが、実際に毒性影響が病理所見等に出ている部位というのが皮質と髄質外帯に多いという結果があります。発がん性予測のところでは詳細は申し上げなかったのですが、用いているデータは皮質由来の遺伝子発現量データがメインで、それを場合によっては髄質外帯のデータで補足しているということがあります。実際に尿細管をターゲットにする腎毒性物質というのが多いため、今回、変動の多い部位としましては髄質外帯・皮質の発現変動遺伝子が多いという結果になりました。

○今井田座長：ありがとうございます。

【4. 当省が実施する必要性】

○庄野委員：ちょっと民間企業の立場から申し上げさせて頂きたいのですが、今の3番、4番は結構な話なので異存はございませんが、1番、2番の書きぶりというのは若干私

どもとしては違和感を感じまして、1番は、中にはそういうところに手を出されている企業さんもおられます。それから製薬企業とか一部のそういう民間企業さんはそういうところに手を出されておられます。ただ一般工業用化学品を使っているバルクの会社はそこまでコストを割れないと言うか、もともとファンクションがそういうファンクション、研究開発ですから、それでこれをスクリーニングに開発しようというところまでは普通は一般的には考えないのですよね、発想の中でね。ですから、ちょっとこの書きぶりは研究開発が実施されない、あるいはインセンティブが期待できないというのは若干私は表現の仕方としては違和感を感じるということなのです。

特に2番のインセンティブを期待できないのではなくて、実際、これは重要なプロセスであることはわかっています。ただ、我々がこれをやるとしても本当に民間企業だけでこれができるかといったら必ずしもそうではない。では、アカデミアはどうなのだというような話にもなりますよね。国が主導して頂くことについては全く異存ないのですが、ちょっとこの表現の仕方には誤解を招く部分があるのではないかなという気がします。工業用化学品というのはもともと利益率が非常に低いところだし、そういった意味ではそこまで研究開発投資ができるかという点必ずしもそうではない。リスクバランスを考えたときにどこまで我々が技術的にやれるかどうかという点、それは特定の企業しかそういうことができないような状況になっているということなので、本質的な問題であろうと私も思いますので、ちょっとこれだから国がやるのだという表現は若干違和感を感じるということでございます。済みません。

○事務局（山野課長補佐）：表現的にはなかなか違和感があるようなものかもしれませんが、いずれにしてもなかなか民間で取り組めないような研究開発というところを国がいかにか支援していくのかというのが重要だと考えております。

○庄野委員：それはありがたいことなので、ただ表現の仕方については若干違和感を感じます。

○油谷委員：ちょっと教えていただきたいのですが、この分野で海外と比べて日本は今どういう位置にあるのですか。例えばこのプロジェクトを成功させることによって日本が優位に立てるとか、現状で優位であるとか、そういうのをちょっと教えていただけないでしょうか。

○事務局（山野課長補佐）：それは海外でも動物試験を代替するというそういう大きな流れがありますので、そういった海外でも細胞試験でそういう毒性を開発していくという流れにありますし、海外でも日本と同じようなまさにデッドヒートしているような段階だと認識しております。

○油谷委員：わかりました。では、今この分野でいかにイニシアティブをとるかが国際的にも重要であるという。

○事務局（山野課長補佐）：はい、そう考えております。

○庄野委員：今のご質問に関連してですが、これはやはりOECDレベルでも世界的な

レベルでも3Rの推進の観点からぜひやるべき仕事だと思いますし、経産省の皆さんを中心にこれをやっていただいているということは非常に良いことだと思います。特に今アメリカはEPAのハールの、いわゆるノースキャロライナで連中はこれをかなりやっていますので、まさにデッドヒートの段階に入ってくるのではないかなと、ぜひイニシアティブをとっていただきたく企業としても応援したいと思います。

【5. 事業アウトカム達成に至るまでのロードマップ】

○津田委員：遺伝子で予測できるということですが、このOECDなどを考えても、いまの状態だと発がんにも必ずしも関係しない、例えば発がん、毒性に関係しないものをずっとまとめて、そして統計解析をやっておりとかなしとかやっているわけですね。そうすると将来的にはやはりOECDとかに持っていくときにメカニズムベースでないを通りにくいと思うのですよ。その辺をもう少し、アウトカムとしてどういうふうに持っていかれるか、どうでしょうか。

○赤堀（CERI）：先生のおっしゃるとおりです。現在、各国からいただいたコメントの中でも、手法としてはおもしろいが、メカニズムベースで遺伝子をみてほしいというリクエストが多いです。そのための1つの取り組みとして、先ほどご報告したとおり、ジエチルニトロソアミンを発がんするまで投与し、経時的にデータをとりました。各国にもこのデータに基づく予測遺伝子の発現挙動を紹介しており、こちらについてはある一定の評価を得られています。ただし、すべての遺伝子で同様の取り組みを実施していないので、ほかの遺伝子もそういうことをしてほしい、とのコメントがあるので、そういった取り組みを進めて行こうと、考えております。

○津田委員：もう一つ、例えば今の比較的短期に予測できるということですが、既存と比べてどうでしょうか。例えば厚労省の加速化のスキームがありますね、アルゴリズムが。あの中に肝発がん法、短期肝発がん、前がん病変でみる方法というのが入っていますね。あの辺と比べてどうでしょうか。

○赤堀（CERI）：いわゆる伊東法でしょうか。

○津田委員：そうです。

○赤堀（CERI）：確か、伊東法はトータル2ヶ月の試験かと思います。

○津田委員：8週ですから2ヶ月ですね。

○赤堀（CERI）：まずはこの手法の場合、その半分の期間でできます。要するに1ヶ月で実施できるというメリットがあります。伊東法に関しては肝切除という、難易性もあるかと思います。そういった観点では、我々の手法は肝臓をサンプリングしてきて遺伝子をみたら予測できる、と簡便な手法になっていると思います。

○齋藤（CERI）：加えて、既存法等の一致率の比較というのは非常に気になる場所ですので、いわゆる伊東法でやられた実験で論文化されている結果で、我々が既に行っているデータベースと照合し、10物質ほど同じ物質を両方の試験を実施しているものが

ありました。伊東法でも100%の一致率、我々のところでも100%の一致率でしたので、精度としてはほぼ同等だということと、併せて、一般毒性のサンプルをそのまま適用できるという簡便さというメリットがこちらのほうにはあると考えております。

○津田委員：もう一つですが、そうすると伊東法ですと変異原性のないものについて若干検出率は落ちるのですが、かなりスクリーニングできるということですが、こちらではいわゆるテストにして使われた物質の変異原性とのデータはどのようなのでしょうか。

○齋藤 (CERI)：今回、その詳細まで報告できなかったのですが、発がん性ありの中の半分以上が非変異原の発がん性物質で、トレーニングデータですべて正答しています。外部データにおきましても肝臓で発がんする非変異の発がん性物質はすべて正答しておりますので、我々のシステムというのは変異原性のありなしにかかわらず肝臓で発がんするものについては非常に高い正答率を示しているということを確認しております。

○津田委員：OECD等へ持っていく場合、例えば農薬などはほとんど非変異原性で発がん性のあるものは結構入っているわけですね。

○齋藤 (CERI)：そうです。

○津田委員：その辺も検証されたデータもあるといいと思います。

○齋藤 (CERI)：ありがとうございます。

○山田委員：国際標準化に持っていかうとすると、当然いろいろなところの幅広い評価を受ける必要があると認識しており、化学物質の国際標準化のために、どのようなプロセスをとらなければならないかという詳細を把握しているわけではないのですが、かなり時間がかかる力仕事になるかと思います。28年度の事業の中でコメントの対応とかされているということですが、今後、最終ゴールに持っていくためにどのような体制を築かれる予定なのか、例えばどこかの学会と組んで対応するとか、国際標準化に向けての今後の取り組みについてはどのようなお考えを持っているのでしょうか。

○赤堀 (CERI)：現時点ではどこかの学会と組んでいくということよりも、今後、*in vitro* 試験法開発のプロジェクト等に我々の成果を提案しながら、*in vitro* 試験に昇華させていくことを考えています。そうすると、*in vitro* に関しても、例えば標準化しましょうというときにはやはりメカニズムが問題となりますので、*in vitro* 化のプロジェクトの中でメカニズムについての考察をしていくことを今は考えています。次期プロジェクトが5カ年ぐらいで予定されていると思いますので、その中でメカニズムをコンプリートして、可能であれば別の柱を立てて検証を考えていくことになると思います。

○山田委員：そうすると、例えば4遺伝子を使った肝発がんの予測についてはOECDへの提案までを研究班で行い、あとはレギュレーションの世界で評価してもらえればそれでいいというスタンスという理解でよろしいのですか。

○赤堀 (CERI)：まだ4遺伝子のうち1遺伝子しかさっきのようなプロファイルをとっていないので、ほかの3遺伝子について少しメカニズム研究を次期プロジェクトの中で検討していく必要があると考えています。それが終わったら標準化のほうに投げていく

という形になると思います。

○齋藤 (CERI) : 少し補足しますと、定量PCR法は既に論文化していますし、先ほどご紹介したホームページにも方法論をすべて載せていますので、我々としての取り組みもあるのですが、その情報を活用してやはり一般の、ワールドワイドに使っていただいてまたそのご意見がもし送られてくるようなことがあれば、そういうものも活用したいと考えています。

○今井田座長 : ありがとうございます。私から質問なのですが、このロードマップに向けて、ここに出ているようにOECDだとか海外に向けた発信というのは大変結構なことだと思うのです。国内に目を向けたときに、ここは経済産業省のプロジェクトですが、例えば厚労省のこういうようなプロジェクトですとか、それからほかの省のこういうプロジェクトとの、どういったらいいのでしょうか、整合性というか、突き合わせとかというのはいかがなのですか。

○赤堀 (CERI) : 具体的に我々がガイドラインの提案をしていくときには必ず厚生労働省等関係省庁からのコメントをいただいてからOECDに提出するというプロセスがあります。日本から海外に出すときには、国内の関係省庁全部が提出書類についてのコメントをいただいてやっていくことになっています。

○今井田座長 : 結果が出た後に、確認をとった後に持っていくというのは普通のプロセスだと思うのですが、ほかのところの省との、何と申しますか。プロトコルを作成する段階等でそこら辺の、まあ過去の話になってしまうかもしれないですが、その調整をするとかというのはあったのですか。

○赤堀 (CERI) : プロトコルの作成に関しては、そこは実施してはおりません。

○今井田座長 : わかりました。それともう一つ、前のデータに戻ってしまうのですが、今回やられた中で肝臓にしる、腎臓にしる、フォールスネガティブ、フォールスポジティブのデータが出ています。腎臓はフォールスネガティブだけでしたか？発がん性のところの予測で一致しなかったということですか？

○赤堀 (CERI) : フォールスポジティブです。

○今井田座長 : フォールスポジティブですね。それは特殊なものなのですか、どうしてそうなったかというところはわかっているのでしょうか？

○齋藤 (CERI) : 少し前に戻りますが、腎臓につきましては2物質が外れました。1物質、いわゆる予測の値が比較的高いアミドールというもので、ラットでは報告はなかったのですが、マウスの雄の腎臓で発がんすることが報告されていたので、もしかしたら、ラットのほうでも腎臓で発がんする可能性というのは0ではなく、少なくともマウスの腎臓では発がんしますので、遺伝子発現量の変化としてはラットの肝臓でも発がんを疑わせる結果と思っています。もう一つの物質 (EBD) につきましては、ポジティブになったとはいえかなり低い値です。今回、そこまで達成できなかったのですが、肝臓の場合は、ゼロに近いところにマージナルゾーンを設け、判定が「±」という判定も

設けており、実際にはこれを単純にポジティブ、ネガティブというのではなくて最終的には例えば発がん性が2プラス、プラス、土、発がん性のマイナス、2マイナスという形で、少し強度をあらわすような形に最終的にシステムとしては落とし込みたいと考えています。恐らくこのEBDにつきましては土に入ってくる、いわゆるマージナルという判定かと思っております。

○津田委員：聞き逃しましたが、これは雄、雌、両方に使ってやっておられるのですか。

○赤堀（CERI）：雄だけです。

○津田委員：雄だけですか？

○赤堀（CERI）：はい。

○津田委員：雌になったらどうするのでしょうか。

○赤堀（CERI）：雌特異的な発がんということですか？

○津田委員：はい。

○赤堀（CERI）：今回、我々が選定した物質の中では雌特異的なものはありませんでした。

○津田委員：同じ物質でも雄には発がん性があるが、雌にはないというのがありますね。

○赤堀（CERI）：はい。

○津田委員：そういう場合、まずイクセプションナルでこれは基礎研究で、これからということになるのですか。

○赤堀（CERI）：そうなると思います。雌を用いる際の問題として、性周期によって遺伝子が大きく変動するため、現実問題として実施する際にはそのコントロールを各コントラクトラポで実際にできるかというところは多分1つ大きな問題になるのかなと考えています。そのような点もあり、そういう難しい要素を排除できる雄から現在検討を進めているのが現状です。これがある程度完成度が高いものになっていった段階で、あと性周期の問題に関してはパーセロームプロジェクト、菅野先生のプロトコルでそういった時間による変動をコントロールするプロトコルもありますので、そういったものを適用することで解決していけるのではないかと考えています。

○津田委員：投与は1ショットではないのでしょうか？

○赤堀（CERI）：28日間連続です。

○津田委員：だから、そこまで、性周期まで余り考える必要はないと思います。

○赤堀（CERI）：そういう遺伝子がないように最初にデザインできていればもう問題ないと思います。

○油谷委員：その1枚前のスライドで、トレーニングデータでPVCの値に差があります。これと既知の毒性の強さというのは相関があったのでしょうか？

○齋藤（CERI）：腎臓のほうでは2用量しか確保できていませんので、腎臓についてはまだ結論が得られておらず、必ず相関性があるとはまだいえないのですが、肝臓のほうはかなりデータが蓄積されています。先ほど、津田先生の低用量での質問の際にコメント

致しましたが、用量を変えればPVC値も同じ物質でも変わります。用量の相関をとりますとかなり用量依存的に上がるという物質がありますので、そこからいわゆる発がん性の強さをTD50ですとか、ベンチマークドーズですとか、そういうものとの相関性は0.8以上あります。したがって、このPVC値というのはかなり発がん性の強さを反映した値ではないかと我々は考えております。

○油谷委員：ありがとうございます。私が聞き逃したと思うのですが、予測トレーニングデータで正答率とおっしゃっていましたが、トレーニングデータでの正答率というのがちょっとその定義がわからなくて、SVMを立てるときに既に予測のトレーニングデータを使っているのだったらそこは正答率も何も出ないと思ったので、そのトレーニングデータでの正答率というのはどういう意味が教えてもらえますか。

○齋藤 (CERI)：トレーニングデータは、SVMの予測式を構築するために使用したデータで、今回の場合は肝臓ですと68化合物を使っています。その後、leave-one-outで遺伝子を最適化します。

○油谷委員：学習データとか、その辺のところですか？

○齋藤 (CERI)：はい、そうです。

○油谷委員：わかりました。

【6. 研究開発の実施・マネジメント体制等】

質疑応答無し

【7. 費用対効果】

○山田委員：発がん予測についてのメリットというのは比較的わかりやすく伝わってきているのですが、一般毒性の肝毒性、腎毒性を評価するために遺伝子発現データをとって評価するというメリットをどのように示したいのかが少しわかりにくい印象を持っています。今回の結果をもって、毒性試験にどのような形で組み込むことによって今までにないどのようなメリットが得られることになるかと言いたいのか、そこを少し説明して頂けないでしょうか。

○赤堀 (CERI)：普通の一般毒性の病理試験の結果でも、毒性学者によって客観性が無いと言ったら語弊がありますが、評価する方によって多少表現が違ってきたりとかして解釈が少し難しいところがあります。一方、遺伝子でみることによって客観的なパラメータで評価できるというところが1つアドバンテージとしてあるかと思えます。もちろん最終的には専門家の判断というものがなくなってきますが、病理組織学的検査以外の客観的な指標として従来の毒性学的変化と非常に関連性の高い遺伝子があり、その変化を定量的に示すことによって客観性を提供できることが1つアドバンテージとしていえるのではないかと考えています。

○山田委員：そうすると評価の質を上げるという意味でメリットがあって、作業効率か

らみて一番ハッピーなのは、この遺伝子発現データをとると生化学データをとらなくていいです、病理検査もしなくてもいいですということになります、そうではなくプラスアルファの作業をしてもらうことになるが、そのかわり質の高い評価ができますよということを主張することになりますか。

○赤堀 (CERI) : 現時点ではそのようになるかと思えます。20年、30年後になったらもう少し歩進んだものがあると思うのですが、今の時点ではプラスアルファの情報提供ができますという段階かと思えます。

○山田委員 : サンプルングも肝臓の部位を選びなさい、腎臓も部位ごとに採材しなさいということになると、恐らく通常の一般毒性に比べてかなりの作業負担になってくるかと思うので、そのあたりはしっかりと説明をしてそのメリットを明確に伝える必要があると思えます。そうしないと、もうそんなプラスアルファの作業を押しつけないでくれというふうに受け入れてもらえなくなってしまう可能性がある、作業負担への誤解がないようにそのメリットを伝えていく努力は必要かというふうに思っています。

○赤堀 (CERI) : ありがとうございます。

○庄野委員 : 今の費用対効果の算定なのですが、ちょっと単純すぎるのではないかと思うのです。というのは、2年間の発がん性毒性試験、要するに医薬でも農薬でもそうですが、かなりファイナルの試験要求項目で、我々は普通スクリーニングレベルではかなりもう落としていっているケースも多いし、ポテンシャルがあるのだったらもう最初から、早期からやらないという話で。どうしてもやれという場合は発がん性試験をやるのだが、これの2年間、5本というパターンだけでは無いような気がします。この算定根拠について若干私も疑問があるのですが、むしろその発達神経とかいわゆる慢性毒性での所見も全部見られるのだという、あくまでも予測手法として、推定手法としてのコストカウントをやったほうが、説得力があるような気がします。2年間、要するに2億円、何億円でもどうしても発がん性試験をやらなければいけないケースというのは登録をとるためにはあるのですが、そのケースというのはレアなので、むしろファイナルステージでの試験なので、そこはちょっと位置づけを変えておいたほうがいいのではないかと思います。

○赤堀 (CERI) : ありがとうございます。念のため、補足説明させていただきますと、この試験法を開発して民間の方に利用して頂くというお話をしたときに、やはり発がん性の評価を行いたいという希望をお聞きします。申請ではないが、自主管理の延長で、やらなければいけない気がする、と。そのようなニーズはやはりあると認識したため、スクリーニングではあるのですが、少なくとも陽性は確実に検出できるという系であるので、今回のような計算も成り立つのかと考え、今回はこの試算を出させていただきました。

○今井田座長 : 私のほうからも、先ほど病理評価は少し曖昧だから、でもこれでやるとクリアカットで評価できますという表現をされたのですが、私、病理屋なのでちょっと一言噛みつきたいのですが、これをやっているのは、例えば我々病理の者にとってみる

と、例えば2年間の発がん性試験を終わったら、発がん性試験を終わった後の病変が発生した後の形態学的にどういうものがあるかというのをみておるわけですね。今やっていることはそれが短期のときに28日なら28日で遺伝子的にどうかというのをみているわけですね。それと発がん性の結果とを、まあ比較して、それでこれで評価できるかもしれませんねということを行っているわけですよ。それをこちらの病理の評価と遺伝子の変化というところでクリアカットにできるからいいですというのは少し、何と申しますかね、飛躍があるような気がするのです。だから、いいたいことはわかりますよ、いいたいことはわかるし、あれなのですが、先ほどのいいかたというか、表現というかというところもあるかと思うのですが、それとこの費用対効果も、まあこういうことをやれといわれたらこういう書き方をせざるを得ないのかもしれないのですが、今回行った結果で長期試験だとかそういうことがすべて置き換えられる、もう完全に置き換えることができますよとなった場合の評価ですよ。逆にいうと、これでもってある程度評価して、ちょうど Equivocal というか、ちょっと曖昧なものが出てきて、それをどう評価したらいいかということになって、結局それは長期の毒性試験にもっていかないかわからないねということになったりすることがあると思うのです。そうすると費用対効果でいうとむしろ一発で初めからやったほうがよかったですねということになるわけですよ。まあいい方の問題だと思うのですが、先ほどの意見ではないですが、ちょっと余りにも単純化して、非常に効果がありますといっているような印象をちょっと受けたので、ちょっとコメントさせていただきました。

○赤堀 (CERI)：ありがとうございます。病理のお話についてはこちらの失言があったということで、そこは訂正させて頂きたいと思えます。曖昧というよりも、素人にもわかりやすい指標を提供することで、総合的に評価することができるようになるというイメージで考えています。費用対効果の表現に関しては、少しほかの要素を考える、もしくは説明する前提条件を明確化することなどで、見直したいと考えております。

○今井田座長：済みません、くどいようでなんですが、この今回の結果を見れば、「素人でもわかりやすい」という表現をされましたが、逆にいうと、この結果を盲目的に信じていいのかどうかということも言えると思えます。専門家が評価して、だからこれは陽性ですとかいうのは良いのですが、結果が出ればこれは素人でも評価できますからというものは、ちょっと私、危険だと思います。

○赤堀 (CERI)：そのような観点で、単純にこれは統計学的なものだけでやると、良くわからないものになってしまうので、メカニズムの裏付けをし、どうしてそうなるのかをきちんと押さえていくことが重要と考えています。スクリーニング段階で、1つの参考情報として客観性を持った定量手法が使えると言うイメージで考えています。

○今井田座長：ありがとうございます。

【8. 事前及び中間評価の結果】

○今井田座長：今説明いただいた点は今回の評価項目には入っていないということなので質疑応答は特にないということなのですが、ちょっと私やはりもう一点聞きたいのです。さっき説明があった中で、いろいろなほかの意見を聞くというのはわかるのですが、データの再現性とか施設間格差をなくすなど考慮することが必要であるというのがあったのですが、これについては何か対応されているのでしょうか。

○赤堀（CERI）：施設間再現性に関しては基本的に複数ラボでの検証というものが必要になってきます。従来は標準化をするための検証試験というところで実施するフェーズです。それをやるには、通常はまず試験法が開発され、プロトコルのオプティマイゼーションを終了させ、その次のフェーズとして施設間差を見ることとなります。今回のプロジェクトでは、そこまではカバーできませんので、今後の標準化作業の中に組み込んでいくということを考えています。

○今井田座長：わかりました。ありがとうございます。

【その他質疑応答】

○今井田座長：それでは、議題の3の8までのところは終了しましたが、全般を通して、よろしければどうぞ。どうぞ、お願いします。

○山田委員：今後は *vitro* の評価系の構築を目指すというお話を伺ったかと思うのですが、かといってヒトにいきなりは持っていないというお話もされていたので、まずはラットの細胞からということになりますか。

○赤堀（CERI）：ヒトへの影響を知りたいという中で、*in vitro* を使うメリットとして、ヒトの細胞とラットの細胞も使うことができます。その中で種間差がみえる可能性はあるかと思えます。ただし、いきなりそのような情報へ行く以外にも、まず既知情報に基づき種間差を整理してみたらどうか、というイメージを今のところは持っているので、それらを組み込めていけたら良いと思っています。

○山田委員：そこで少し気になったのが、肝毒性、腎毒性のマーカーを絞り込むときに M_oA と AOP をもとに生物学的に意味づけができたものを最終的にマーカーに持っていたというお話をされていたかと思うのですが、私、誤解しているかもしれないのですが、統計学に有意に変動を示したものでも機能が未知の遺伝子についてはマーカーから除外したとの理解でよいでしょうか。

○齋藤（CERI）：両方です。統計学的なものも入っていますし、バイオリジカルなものと両方ミックスしたものというイメージを持っていただけだと思います。

○山田委員：両方ですか。少し心配したのが、遺伝子の働きが未知のものを省いているとしたら、今は機能がわからなくても近々にわかってくる可能性のあるものもあるので、*vivo* と *vitro* のブリッジングの難しさからすると、少しでも可能性のあるものは拾っておいたほうが良いと思いました。では、機能が未知のものも含めているということでもよろしいですか。

○齋藤 (CERI) : はい。

○山田委員 : わかりました。

○油谷委員 : 今の質問にも少し関係があるのですが、やはり既知の知見を入れているということは新しい遺伝子、すなわち今までそういうものはわかっていなかった遺伝子というのは、今回はマーカーとしては出てこなかったということですか？

○齋藤 (CERI) : 入れています。説明がわかりづらくて申し訳なかったのですが、統計学的手法で選んだものというのは、全くメカニズムは抜きにして階層的クラスタリングなどいろいろな手法でメカニズムが類似している化合物群で遺伝子の名前がわからないもの、機能もわからないものも含めて共通性の高いものをマーカー遺伝子としてまず拾っています。さらにそれプラス、それはそれでマーカー遺伝子なのですが、それプラスメカニズム側からアプローチしていったものもミックスしたものを今回、判定システムの中に入れていきます。

○津田委員 : それから毒性ですが、例えば今、肝臓をとって生化学的にばらして遺伝子をとってやってみているわけですね。そうすると肝臓というのはいろいろな細胞からなっているのですが、我々毒性学でみて、HEという一番安い方法でみても肝細胞毒性があるのか、あるいは胆管にあるのか、あるいはクッパーセルがやられているのかというところまで簡単似わかるわけですね。腎臓でいえば糸球体に毒性があるのか、もちろん変異とかそういうことは少し切り分けているのですが、そういう点についてどうなのでしょう。

○齋藤 (CERI) : 毒性判定システムとして挙げたマーカー遺伝子は先生がおっしゃるレベルまではちょっとまだ至っていないというのが現状です。しかし、ケーススタディとして例えば四塩化炭素を挙げたと思うのですが、あれは小葉中心性の肝毒性を主に起こします。そのあたりというのはやはり病理の専門家の方々と、例えば小葉中心性と周辺性の毒性のメカニズムの違いで、例えばCYPや代謝酵素の誘導の違いですとか、そういうものを考慮しながらAOPのチュートリアルに合わせてデータを整理していきました。例えば肝臓の中でもかなり細かいところに関係したマーカーというのはより拾えてくる可能性はあると思います。かなりタフな仕事になり、非常に時間がかかりますが、これからどんどんその知見を蓄積していく必要があると思います。

○津田委員 : 結果はコンベンショナルなHEの診断と突き合わせていくことですか。

○齋藤 (CERI) : はい、そのとおりです。実際、AOPをつくる時には顕微鏡で病理切片を見ながら病理の専門家の先生とディスカッションして、我々はこちらのPCで遺伝子発現量データと照合しながら、どういう現象でこれがこう動いているからという形で最終的に絵にしました。やはり病理所見のデータというのは非常に重要なデータだと我々は考えております。

○津田委員 : この手法、例えばいわゆる顕微鏡での組織細胞のダイセクションという手法でとってやることは可能なのですか、量的に難しいのですか？

○津田委員：例えば胆管だったら胆管からDNAをとってくるのですが、まだやっていないのですか？

○赤堀（CERI）：先ほどの90日のDENの試験の中ではがんの変化をみていく際に、がん化した部分と、まだf o c iの段階の部分があり、それらを混ぜて解析してしまつたら訳がわからなくなってしまう。そこで、このDENの試験の際には、ダイセクションのようなことを実施して、別々にプロファイルをとって解析しています。残念ながら、先生がおっしゃっているような普通の肝毒性の中で、解析したかという、今回はそこまでは行っていません。

○津田委員：マイクロダイセクションでそこをとるといふようなことができれば、それによる解析が可能になれば、だんだんHEの人の目によるものに近づくのではないかと思います。

○赤堀（CERI）：ありがとうございました。

○今井田座長：せっかく渋谷先生が来てくれているので神経のお話をちょっと聞きたいのです。さっき腎臓のところでちょっと聞いたのですが、部位の違いをやつてということなのですが、脳のほうも部位でいろいろされていますね。ある物質、アンノウンの物質で評価した場合に、先生の手法でやつた場合、部位で異常があるないというところが、どういふかな、アンノウンの物質なのでどこに神経毒性が発現するかわからないような場合に、そこら辺の評価の仕方というのはどうなのでしょう。

○渋谷教授（東京農工大学）：今まで5物質経験してみましてみていますと、神経毒性のある物質、あるいは発達神経毒性のある物質は遺伝子発現プロファイルからみるとニューロン新生部位の海馬歯状回でかなり反応性が高いというのがわかります。ほかの脳部位はその毒性に応じたプロファイルが出てくる感じ。つまり、ニューロン新生障害が起こっているのです。それによる反応性がみえてくるということです。標的メカニズムが違つても、その海馬の歯状回がよく反応するということです。

○今井田座長：逆にいうと、海馬歯状回のところだけ見れば大体評価できるということですか。

○渋谷教授（東京農工大学）：極論をいえばそういうことになるかもしれません。

○今井田座長：今回、先生のところでやられたのは5物質ですか？

○渋谷教授（東京農工大学）：はい。

○今井田座長：でも、5物質以外の神経毒性物質でみるとまたそれはわからないかもしれません。

○渋谷教授（東京農工大学）：プロファイルはとっていないのですが、今まで16物質以上ほかのプロジェクトでやっていますが、神経毒性物質の場合には大体ニューロン新生障害が起こるといふのは確認しております。

○今井田座長：ありがとうございます。

○津田委員：アウトカムとアウトプットとよくわからないのですが。

○事務局（山野課長補佐）：私のほうから簡単に、アウトプットと申しますのは、このプロジェクトの中で直接的に出てくる、例えば手法を開発するようにしているのであればその手法の開発というのがまさにアウトプットになると思います。このプロジェクトによって直接的に生み出される目標といいますか、目的ですね、こういうことをプロジェクトでやるのだということでこのプロジェクトが5年間実施されたわけですが、その結果、予定どおり目標が達成されているその目標物というのがアウトプットになるという理解です。

○津田委員：日本語にすると。

○事務局（山野課長補佐）：成果物、成果。その予定どおりの成果が得られているかどうかということになろうかと思えます。

○事務局（山野課長補佐）：アウトカムは、アウトプットが得られることによって将来、その社会的価値がどう生み出されるのかというところで、例えばこういう事例が適切かどうかわからないですが、あるプロジェクトで信号機を開発しました。信号機を開発するプロジェクトだということであれば、その開発した信号機がまさに計画どおりのものができているのかというのがアウトプットになります。その結果、信号機ができたことによって、では実際にそれが社会に取り入れられることによって交通の渋滞がなくなった、交通の利便性がよくなったとか、そういう社会的な効果という意味でアウトカムという表現を使っています。

○今井田座長：ありがとうございます。今の信号機の説明はきょう一番わかりやすい説明かもしれないですね。ありがとうございます。

○津田委員：アウトプットの結果と解釈していいですか。

○事務局（山野課長補佐）：正にこのプロジェクトでの結果と理解していいです。

○津田委員：アウトカムはそれがきちっと応用できるかということですか？

○事務局（山野課長補佐）：はい、社会的にその応用ということですか。

○今井田座長：ありがとうございます。今説明いただきましたが、何かご質問はございますか、よろしいでしょうか。本日は委員の先生方、それから発表いただいた方々、ご多忙中のところをお集まりいただきまして、まことにありがとうございました。おかげさまで早く審議が進みまして30分余裕が持てるようになりました。それでは、これで閉会とさせていただきます。きょうはどうもありがとうございました。

（5）今後の予定について

追加の質問の提出期限を11月4日、また評価コメント票の提出期限を平成28年11月11日とすることを確認した。また、第2回評価検討会を平成28年12月中旬に開催予定とした。

（6）閉会

以上