

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（プロジェクト）
技術評価結果報告書（終了時評価）

（案）

平成29年2月24日

経済産業省製造産業局化学物質管理課

研究開発・イノベーション小委員会評価ワーキンググループ

はじめに

研究開発の評価は、研究開発活動の効率化・活性化、優れた成果の獲得や社会・経済への還元等を図るとともに、国民に対して説明責任を果たすために、極めて重要な活動であり、このため、経済産業省では、「国の研究開発評価に関する大綱的指針」（平成24年12月6日、内閣総理大臣決定）等に沿った適切な評価を実施すべく「経済産業省技術評価指針」（平成26年4月改正）を定め、これに基づいて研究開発の評価を実施している。

経済産業省において実施している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は、石油精製物質等の化学物質において、国際的なニーズがあり十分整備されていない多様なエンドポイントの有害性評価手法について、遺伝子発現変動解析手法、培養細胞手法等による評価技術の確立を目的とし、化学物質の迅速かつ効率的な有害性評価手法を開発するため、平成23年度から平成27年度まで実施したものである。

今般、省外の有識者からなる「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）」終了時評価検討会（今井田克己座長：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）及び「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）」終了時評価検討会（堀井郁夫座長：堀井サイエンスアソシエイト株式会社 代表取締役社長）における検討の結果取り纏められた、「『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』技術評価結果報告書」の原案について、産業構造審議会産業技術環境分科会研究開発・イノベーション小委員会評価ワーキンググループ（座長：小林 直人 早稲田大学研究戦略センター副所長・研究院副院長教授）において、審議し、了承された。

本書は、これらの評価結果を取りまとめたものである。

平成29年2月24日

産業構造審議会産業技術環境分科会

研究・イノベーション小委員会評価ワーキンググループ

産業構造審議会産業技術環境分科会

研究開発・イノベーション小委員会 評価ワーキンググループ

委員名簿

座長	小林 直人	早稲田大学研究戦略センター 副所長・研究院副研究院長	教授
委員	大島 まり	東京大学大学院情報学環	教授
		東京大学生産技術研究所	教授
同	亀井 信一	株式会社三菱総合研究所	政策・経済研究センター長
同	齊藤 栄子	三菱UFJリサーチ&コンサルティング株式会社	政策研究事業本部 主任研究員
同	高橋真木子	金沢工業大学大学院イノベーションマネジメント	研究科 教授
同	津川 若子	東京農工大学大学院工学研究院	准教授
同	西尾 好司	株式会社富士通総研経済研究所	上席主任研究員
同	浜田恵美子	元・名古屋工業大学大学院	教授
同	森 俊介	東京理科大学理工学部経営工学科	教授

(敬称略、座長除き五十音順)

事務局：経済産業省産業技術環境局技術評価室

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
終了時評価（事後評価）検討会
委員名簿

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

座長 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

委員 油谷 幸代 国立研究開発法人産業技術総合研究所
生体システムビッグデータ解析ラボ 副ラボ長
兼 企画本部 企画主幹 兼 創薬基盤研究部門 主任研究員

同 庄野 文章 一般社団法人日本化学工業協会 常務理事

同 津田 洋幸 公立大学法人名古屋市立大学 特任教授

同 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

②. 肝臓毒性、腎臓毒性及び神経毒性 in vitro 試験法の開発

座長 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

委員 尾崎 倫孝 国立大学法人北海道大学 大学院保健科学研究院 教授

同 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

同 庄野 文章 一般社団法人日本化学工業協会 常務理事

同 寺岡 宏樹 学校法人酪農学園 酪農学園大学
獣医学群 教授

（敬称略、座長除き五十音順）

事務局：経済産業省産業技術環境局技術評価室

**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
技術評価に係る省内関係者**

【終了時評価時】

(平成28年度)

製造産業局 化学物質管理課長 山内 輝暢 (事業担当課長)

大臣官房参事官 (イノベーション推進担当)

産業技術環境局 研究開発課 技術評価室長 竹上 嗣郎

【中間評価時】

(平成25年度)

製造産業局 化学物質管理課長 三木 健 (事業担当課長)

産業技術環境局 産業技術政策課 技術評価室長 飯村 亜紀子

【事前評価時】 (事業初年度予算要求時)

製造産業局 化学物質管理課長 河本 光明 (事業担当課長)

産業技術環境局 産業技術政策課 技術評価室長 長濱 裕二

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 終了時評価の審議経過

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】

◆産業構造審議会産業技術環境分科会研究開発・イノベーション小委員会評価ワーキンググループ（平成29年2月24日）

- ・技術評価結果報告書（終了時評価）について

◆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

第1回評価検討会（平成28年10月31日）

- ・事業の概要について
- ・評価の進め方について

第2回評価検討会（平成28年12月12日～平成28年12月16日）

- ・技術評価結果報告書（終了時評価）について

※書面審議にて実施

【中間評価】

◆産業構造審議会産業技術環境分科会研究開発・イノベーション小委員会評価ワーキンググループ（平成26年1月24日）

- ・評価報告書（中間評価）について

◆「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）」評価検討会

第1回評価検討会（平成25年10月7日）

- ・事業の概要について
- ・評価の進め方について

第2回評価検討会（平成25年11月26日～平成25年12月3日）

- ・評価報告書（中間評価）について

※書面審議にて実施

【事前評価】

◆産業構造審議会産業技術分科会小委員会（平成22年7月7日）

- ・ 評価報告書（事前評価）について（包括審議）

◆ 「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」 評価検討会

事前評価検討会（平成22年6月3日～平成22年6月15日）

- ・ 事業の概要について
- ・ 評価の進め方について

※外部有識者（評価者）を訪問するなどにより、上記について説明を行った後、メールレビューにて評価報告書（案）の審議を実施。

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】

◆ 産業構造審議会産業技術環境分科会研究開発・イノベーション小委員会評価ワーキンググループ

（平成29年2月24日）

- ・ 技術評価結果報告書（終了時評価）について

◆ 「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

第1回評価検討会（平成28年12月15日）

- ・ 事業の概要について
- ・ 評価の進め方について

第2回評価検討会（平成29年1月18日～平成28年1月24日）

- ・ 技術評価結果報告書（終了時評価）について

※書面審議にて実施

【中間評価】

◆ 産業構造審議会産業技術環境分科会研究開発・イノベーション小委員会評価ワーキンググループ

（平成26年1月24日）

- ・ 評価報告書（中間評価）について

◆ 「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）」 評価検討会

第1回評価検討会（平成25年9月26日）

- ・ 事業の概要について
- ・ 評価の進め方について

第2回評価検討会（平成25年11月27日～平成25年12月3日）

- ・ 評価報告書（中間評価）について
- ※書面審議にて実施

【事前評価】

◆ 産業構造審議会産業技術分科会小委員会（平成22年7月7日）

- ・ 評価報告書（事前評価）について（包括審議）

◆ 「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」評価検討会
事前評価検討会（平成22年6月3日～平成22年6月15日）

- ・ 事業の概要について
- ・ 評価の進め方について

※外部有識者（評価者）を訪問するなどにより、上記について説明を行った後、メールレビューにて評価報告書(案)の審議を実施。

目 次

はじめに

産業構造審議会産業技術環境分科会研究開発・イノベーション小委員会評価ワーキンググループ委員名簿

終了時評価検討会 委員名簿

技術評価に係る省内関係者

終了時評価の審議経過

目次

ページ

技術評価結果報告書（終了時評価）	1
I. 研究開発課題（プロジェクト）概要	4
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	
1. 事業アウトカム	4
2. 研究開発内容及び事業アウトプット	5
3. 当省（国）が実施することの必要性	8
4. 事業アウトカム達成に至るまでのロードマップ	8
5. 研究開発の実施・マネジメント体制等	11
6. 費用対効果	14
②. 肝臓毒性、腎臓毒性及び神経毒性 in vitro 試験法の開発	15
1. 事業アウトカム	15
2. 研究開発内容及び事業アウトプット	17
3. 当省（国）が実施することの必要性	18
4. 事業アウトカム達成に至るまでのロードマップ	20
5. 研究開発の実施・マネジメント体制等	20
6. 費用対効果	22
II. 外部有識者（評価検討会等）の評価	24
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	
1. 事業アウトカムの妥当性	24
2. 研究開発内容及び事業アウトプットの妥当性	25
3. 当省（国）が実施することの必要性の妥当性	26
4. 事業アウトカム達成に至るまでのロードマップの妥当性	27
5. 研究開発の実施・マネジメント体制等の妥当性	27
6. 費用対効果の妥当性	28

7. 総合評価	29
8. 今後の研究開発の方向等に関する提言	30
②. 肝臓毒性、腎臓毒性及び神経毒性 in vitro 試験法の開発	31
1. 事業アウトカムの妥当性	31
2. 研究開発内容及び事業アウトプットの妥当性	32
3. 当省（国）が実施することの必要性の妥当性	33
4. 事業アウトカム達成に至るまでのロードマップの妥当性	34
5. 研究開発の実施・マネジメント体制等の妥当性	35
6. 費用対効果の妥当性	36
7. 総合評価	36
8. 今後の研究開発の方向等に関する提言	38
Ⅲ. 評点法による評点結果	41
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	42
②. 肝臓毒性、腎臓毒性及び神経毒性 in vitro 試験法の開発	42
Ⅳ. 産業構造審議会評価ワーキンググループの所見及び同所見を踏まえた改善点等	43

「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」

技術開発報告書（終了時評価）

プロジェクト名	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
行政事業レビューとの関係	(平成27年度 事業番号 0269)
上位施策名	主要政策・施策：科学技術・イノベーションイノベーション 関係する計画、通知等：第四期科学技術基本計画（平成23年8月19日閣議決定） 政策・施策名：5. エネルギー・環境、5-1. 資源・燃料
担当課室	製造産業局化学物質管理課
プロジェクトの目的・概要	
<p>【背景】</p> <p>石油の精製工程を経て得られる石油製品や精製の過程で生成される物質（以下「石油精製物質」という）には、消費者の身近で使用される製品となる物質も多いが、有害性情報が明らかになっていない物質が数多く存在している。また、2020年までに化学物質の影響を最小化するという国際目標（持続可能な開発に関する世界首脳会議（WSSD¹）目標）達成のため、新規化学物質だけではなく、膨大に存在する既存化学物質への対応が必要となっている。また、化学物質の危険性や有害性（一般毒性、発がん性、神経毒性等、以下「エンドポイント」という）の分類基準等の統一化にむけ、2003年に国連勧告として採択されたGHS²の各国における規制への導入も近年急速に進んでいる。このように、これまで有害性の評価が行われていなかった物質も評価対象となり、従来以上に多様なエンドポイントに対応した有害性を評価するニーズが高まっている。</p> <p>このため、遺伝子発現変動解析手法、培養細胞手法等による評価技術の確立を目的として、次の2つの研究開発項目について実施した。以下に研究開発項目別に目的・概要を記す。</p>	
<p>【目的・概要】</p> <p>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</p> <p>化審法やREACH規則においてスクリーニング試験として28日間反復投与毒性試験（OECDテストガイドラインNo.407）の臓器等を生体サンプルとして遺伝子発現変動データを取得し、そのデータを解析することにより、単一の動物試験から(1)～(3)の有害性に関する予兆的情報を得る手法を開発した。</p> <p>将来的には、本事業で構築した手法を行政利用されている28日間反復投与試験に組み込みこむことで、これまで毒性エンドポイントごとに個別の異なる動物試験が必要だった有害性評価手</p>	

¹ WSSD : World Summit on Sustainable Development

² GHS : Globally Harmonized System of Classification and Labeling of Chemicals

法を、1本の毒性試験でマルチに検出できるようなスクリーニング試験系となる（図1）。

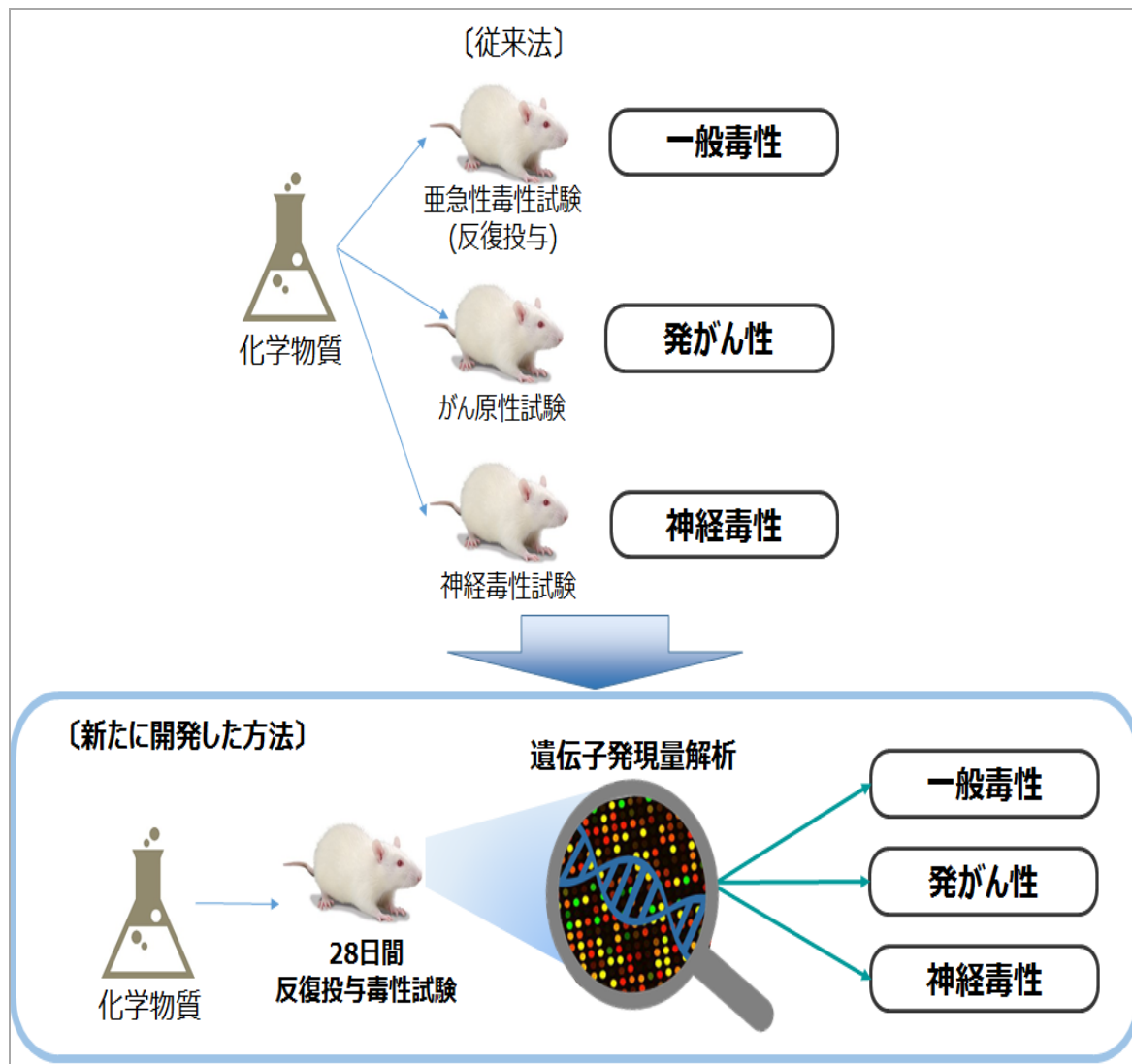


図1 開発した新規評価方法のイメージ。

②. 肝臓毒性、腎臓毒性及び神経毒性 in vitro 試験法の開発

平成23年に化審法を改正し、全ての既存化学物質に関するリスク評価を行う法体系が整備された。2020年までに数百の優先評価化学物質が選定され、その中からリスクの懸念のある化学物質に関して有害性を判断するための有害性調査（文献調査又は追加試験）を製造・輸入事業者に指示する可能性が見込まれる。効果的かつ効率的に試験が実施できるよう、調査すべき有害性項目を指示することが重要となっている。

リスク評価や有害性項目指示の的確な実施を行うため、様々なエンドポイントでの有害性発現の可能性を迅速かつ効率的な有害性試験法により、スクリーニングレベルの有害性データが取得できることが極めて有用である。

こうした背景を踏まえ、本研究開発では、石油精製物質等の化学物質において、国際的なニーズがあり十分整備されていない多様なエンドポイントの有害性評価手法について、培養細胞手法等による評価技術の確立を目的とする。

予算額等（委託）

- 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
(単位：百万円)

開始年度	終了年度	中間評価時期	終了時評価時期	事業実施主体
平成23年度	平成27年度	平成25年度	平成28年度	一般財団法人化学物質評価研究機構
H25FY執行額	H26FY執行額	H27FY執行額	総執行額	総予算額
153	132	120	751	751

- ②. 肝臓毒性、腎臓毒性及び神経毒性 in vitro 試験法の開発

(単位：百万円)

開始年度	終了年度	中間評価時期	終了時評価時期	事業実施主体
平成23年度	平成27年度	平成25年度	平成28年度	公益財団法人鳥取県産業振興機構
H25FY執行額	H26FY執行額	H27FY執行額	総執行額	総予算額
102	97	90	495	489

I. 研究開発課題（プロジェクト）概要

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

1. 事業アウトカム

事業アウトカム指標		
<p>複数エンドポイントの情報を短期間の単一の試験から取得可能になることで、試験費用及び期間を削減できることにより、動物福祉 3R に寄与しつつ、迅速な有害性評価、リスク評価が可能となる。また、国内における円滑な化学物質管理の実施が促進され、石油精製物質の安定供給が可能になるとともに、産業界の国際競争力の向上に繋がる。これらが本事業のアウトカムとなるが、これらは、広く民間利用されることで実現されるものであるため、民間利用件数をアウトカム指標とした。</p> <p>なお、開発手法は知名度が低いことに加え、標準化（OECD ガイドライン化）されていないことから、現時点での実績件数は少ない。しかし、本来数億円をかけなければならないエンドポイントを数百万円でスクリーニングできる等のメリットから、平成 28 年 10 月時点で、合計 11 件の民間利用を実現しており（目標最終年度の計画値の 10%超）、今後、OECD ガイドラインとなることで、より一層の、民間利用が促進されることが期待できる。</p> <p>また、本事業では遺伝子発現量データに基づくメカニズム解析を実施しており、今後 <i>in vitro</i> 試験系の開発、さらには <i>in silico</i> 化へつなげられる可能性があり、これが実現されれば、我が国におけるより一層の国際競争力強化に繋がるものとなる。</p>		
指標目標値		
事業開始時（23年度）	計画：0件	実績：0件
中間評価時（25年度）	計画：2件	実績：4件（達成）
終了時評価時（27年度）	計画：5件	実績：5件（達成）
目標最終年度（40年度予定）	計画：100件程度	

2. 研究開発内容及び事業アウトプット

(1) 研究開発内容

ヒト健康影響に対する有害性情報が明らかになっていない物質は多数存在しており、特に重要度の高い(1)主要臓器（肝臓・腎臓）における一般毒性、(2)発がん性、(3)神経毒性について、それらの有害性情報を効率的に取得する必要が高まっている。一方、現在行われている毒性評価においては、エンドポイントに応じて、それぞれ試験を実施する必要があるが、(1)～(3)等の毒性試験においては、多額の費用、長い試験期間、多くの実験動物を要する。近年、網羅的に遺伝子発現量解析ができることで、従来以上の情報が得られるようになり、動物試験から得られた臓器の遺伝子発現量変化を活用した毒性予測・評価について、国内ではトキシコゲノミクスプロジェクト (TGP) や米国の Next Generation Risk Assessment プログラム等で検討されているが、未だ実用レベルで利用できる方法論は確立されていない。

そこで、本事業では、(1)～(3)の毒性について、遺伝子発現量解析を取り入れた新たな検出方法の開発を行い、プロトコル構築を目指した。

〔解決すべき具体的課題〕

- 現在行われているヒト健康影響に関わる有害性の評価では、動物試験の結果に基づく評価が中心であり、エンドポイントに応じた動物試験をそれぞれ実施しなければならない。ところが、最も長期間の試験となる発がん性では2年間の動物試験となる等、多くのリソース（費用、試験期間、実験動物等）が必要となるため、こうした問題を解決できる効果的かつ効率的な有害性情報を取得する手法の開発が課題となる。
- 発がん性のような長期の試験期間を要する毒性を短期間で検出する必要がある。
- 動物試験削減等の効率化のために、行政利用されている既存の試験を活用する方法を考案する必要がある。



- 化審法やREACH規則においてスクリーニング試験として行政利用されている28日間反復投与毒性試験（OECDテストガイドラインNo. 407）を活用する。
- 毒性影響に関連した初期的応答を遺伝子発現量の変化等で捉えられれば、長期毒性等の複数の毒性を短期間（28日間）で検出できる可能性がある。

〔実施内容〕

本事業では、以下を目指して、化審法や欧州の化学品規則（REACH）等でスクリーニング試験として使用されている28日間反復投与毒性試験（OECDテストガイドライン407）に遺伝子発現量解析を取り入れる評価法開発を実施した。

具体的には以下を実施した。

(1)～(3)の毒性エンドポイントの検出法開発を行うために必要な目的臓器あるいは組織である肝臓、腎臓及び脳（海馬歯状回、帯状回、脳梁、小脳）における遺伝子発現量データの取得法について標準プロトコルを確立した。特に脳については、脳の部位特異的な採材が行えるメタカーン固定法を開発し、プロトコルを確立した。

(1)主要臓器（肝臓・腎臓）における一般毒性については、35試験（32物質）の28日間反復投与試験を行い（1、7、14及び28日間の時系列でサンプリング）、数万種類の遺伝子について包括的

な発現量データを取得した。その後、動物実験で得られた毒性所見と遺伝子発現量データとの関係性について、バイオインフォマティクス及び生物学的応答に基づく解析を行い（AOP³として整理）、マーカー遺伝子探索を実施した。これまでに肝臓では単細胞壊死、肝細胞肥大、肝細胞脂肪変性を、腎臓では近位尿細管空胞変性、近位尿細管核濃縮、近位尿細管核大小不同、乳頭壊死について、特徴的に発現変動するマーカー候補遺伝子を選定することができた。さらに、これらのマーカー候補遺伝子群を用いて「主要臓器（肝臓・腎臓）の一般毒性の発現可能性を予測する解析手法」を開発し、プロトコルを作成した。

(2) 発がん性については、化学発がんにおいて標的性の高い肝臓及び腎臓に着目し、化審法で行われる28日間反復投与試験で取得した遺伝子発現量データを活用し、長期間投与が必要な発がん性を予測できる“短期発がん性予測手法”の開発を行った。これまでに、35試験（32物質）について28日間反復投与試験を実施し、肝臓及び腎臓の遺伝子発現量データを取得した。肝臓については前身のプロジェクト（NEDOプロジェクト「高精度・簡易有害性（ハザード）評価システム開発」）で新規の短期発がん性予測手法を開発することができたために、本事業で取得した35試験（32物質）を外部データとして活用し、短期発がん性予測手法の予測精度の確認を行った。また、厚生労働省トキシコゲノミクスプロジェクト（2002–2012年度）で取得され、既に一般公開されている遺伝子発現量データを活用し、本システムに適用し、どの程度の予測結果が得られるかを検証した。さらに、より簡易な手法として定量PCR法による定性的な発がん性予測手法を構築し（一致率；トレーニングデータで82.8%（24/29）、バリデーションデータで86.4%（19/22））、プロトコル及びOECDへ提案するためにPreliminary SPSF⁴案を作成した。また、予測遺伝子と発がん性との関係を明らかにするために、発がんが起こるまでの動物試験（18週間）を実施し、世界で初めて発がんに至るまでの経時的な遺伝子発現量データを取得するとともに、発がんに至るまでの過程についてA0案として整理した。腎臓については、35試験（32物質）の遺伝子発現量データと腎臓発がん性との関連性をバイオインフォマティクス技術により解析し、これまでに腎臓発がんに関連したマーカー候補遺伝子を選定することができた。さらに、これらのマーカー候補遺伝子群を用いて腎臓における短期発がん性予測手法を開発し、プロトコルを作成した。

(3) 神経毒性については、対部位によって役割が異なる脳と言う複雑な組織における遺伝子の発現変動によって神経毒性を捉えることができるかを確認する必要がある、本事業では遺伝子に基づく評価法の実現可能性を検討するフィジビリティ研究を中心とした。本項では、神経毒性だけでなく発達神経毒性も視野に入れ、発達期だけでなく成熟動物でも新生・分化が継続している、中枢神経系において重要なニューロンやグリアに着目し、作用既知の異なる5物質について発達期暴露（妊娠6日目から授乳終了時までの母動物投与を介した暴露）及び28日間反復投与試験（生後5週齢ラットを用いた28日間投与）を行い、着目している脳の4部位（海馬歯状回、帯状回、脳梁、小脳）の遺伝子発現量データを取得した。また、発達期暴露と28日間反復投与試験で発現変動した遺伝子群を比較して、ライフステージが異なる脳サンプルにおいて共通に変動する遺伝子群を選定し、神経毒性のマーカー候補遺伝子を探索するとともに、その免疫組織学的な検出方法等を構築した。さらに、取得したデータで可能な範囲で、神経毒性評価手法を構築し、プロトコル案を作成した。

³ AOP: Adverse outcome pathway. 有害影響（Adverse outcome）が現れるまでの過程を分子初期イベント（Molecular Initiating Event）、キーイベント（細胞応答、臓器応答）のパスウェイを描いた概念図

⁴ Preliminary SPSF: OECD加盟国等にテストガイドライン化への関心等の意見を募るための様式

主要臓器（肝臓・腎臓）における一般毒性及び発がん性については、ウェブページに本事業で取得したデータ、構築したプロトコル及び解析ツールを公開している。また、Preliminary SPSF は 2016 年 6 月に OECD へ提出し、2016 年 10 月現在、各国コメントを受領し、コメント対応を行っているところである。

本事業で構築した毒性判定もしくは予測手法を行政利用されている 28 日間反復投与試験に組み込みこむことで、これまで毒性エンドポイントごとに個別の異なる動物試験が必要だった有害性評価手法を、1 本の毒性試験でマルチに検出できるような試験系となる（図 1）。これにより大幅なコスト削減と時間短縮、動物数削減が見込まれ、さらに遺伝子発現量をベースにした測定法により定量性が高く、かつメカニズムベースの毒性評価ができることが期待される。

（２）事業アウトプット

事業アウトプット指標		
本事業における目標は「28 日間反復投与試験の動物サンプルから取得した遺伝子発現変動データを活用して有害性を予測する手法の開発」であり、一般に利用できる環境整備が必要であるため、以下を事業アウトカム指標として設定した。		
<ul style="list-style-type: none"> ・ 本事業で開発したプロトコル数 ・ 本事業で開発した評価法の OECD への提案数 		
本事業で作成したプロトコルは 5、開発した評価法の OECD への提案数は 1 である。		
指標目標値（計画及び実績）		
事業開始時（23 年度）	計画：0	実績：0
中間評価時（25 年度）	計画：0	実績：0
終了時評価時（28 年度）	計画：6	実績：6（達成）

< 共通指標実績 >（H28 年 10 月時点）

論文数	論文の被引用度数	国際標準への寄与 ^{*1}	プロトタイプの作成 ^{*2}
26 報 (うち 3 報は投稿中)	69 報	3	5 件

*1：国際貢献への寄与

- ・ OECD 会議（EAGMST 会議^{*2}）での発表 2 回
- ・ Preliminary SPSF 提出準備

*2：プロトタイプの作成

肝毒性／腎毒性／肝発がん性／腎発がん性／神経毒性

< その他 >

- ・ 公表プロトコル 4 件
肝毒性／腎毒性／肝発がん性／腎発がん性
- ・ 学会発表（件数、H28 年 10 月時点） 合計 53 件

国際学会 (口頭発表)	国内学会 (口頭発表)	講演等	国際学会 (ポスター発表)	国内学会 (ポスター発表)
5*	7	7	10	24

*：OECD 会議での発表 2 回を含む

3. 当省(国)が実施することの必要性

①多様な研究機関の結集

- ・本研究開発は、迅速活高効率な安全性評価手法を開発するものであり、その先導性ゆえ、基礎研究レベルのシーズを有する研究機関、大学を結集させて取り組む必要がある。

②知的基盤の形成に資する研究開発

- ・本研究開発は、国内の化学物質管理の円滑な実施に資する研究開発であり、開発する安全性評価手法は、公平、中立な手法として信頼性を確保していくことが求められる。

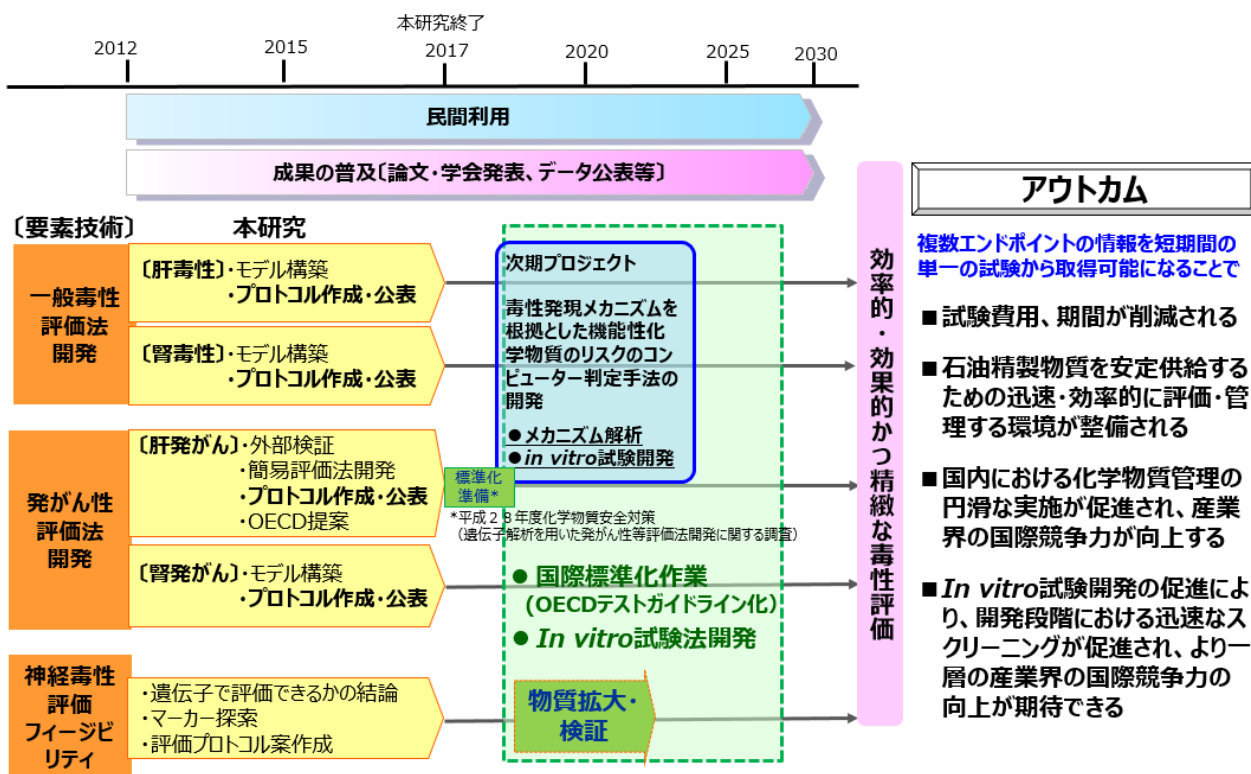
③国際競争力強化のための国際ルールづくり

- ・本研究開発は、行政的な取組みでの活用も想定しつつ、産業競争力を強化することを目的として国際標準化を目指すものであり、国が先導して開発を推進すべきものである。

以上のことから、本研究開発プロジェクトは、国が主導的に取り組むことが適当である。

4. 事業アウトカム達成に至るまでのロードマップ

本事業で開発した評価手法は、広く民間利用されることにより、化学物質管理の円滑な促進、産業界の国際競争力強化に繋がる。そのためのロードマップを以下に示す。



[アウトカム]

複数エンドポイントの情報を短期間の単一試験から取得可能になることで、以下のアウトカムが得られる；

- ・ 試験の費用、期間が削減される。
- ・ 動物福祉 3R に寄与した、迅速な有害性評価、リスク評価が可能になる。
- ・ 石油精製物質を安定供給するための迅速・効率的なリスク評価や管理の環境が整備される。

- ・ 自主管理を含めた、国内における円滑な化学物質管理の実施が促進され、産業界の国際競争力の向上に繋がる。
- ・ 本事業で蓄積したデータ及びメカニズム解析の結果等を活用した *in vitro* 試験法、さらには *in silico* 評価法が構築されることで、より一層の産業界の国際競争力強化とともに、円滑な化学物質管理が促進される。

[アウトカム達成に至るまでのこれまでの取り組み]

開発手法が OECD のテストガイドラインになることで、行政におけるデータ受入れが促進され、より広範囲に活用されることが強く期待できることから、その実現に向けた取り組みを実施している。一方、実験動物を用いた試験法の OECD テストガイドライン化には、10 年相当の時間を要することから、ガイドライン化されていなくとも、民間利用を促進するための取り組みを実施してきた *in vitro in silico*

国際標準化（OECD テストガイドライン化）についての実施事項を以下に示す。

◆民間利用に向けた取り組み

●管理技術・公開講座等

- －CERI 寄附講座 九州大学（公開）
- －日本動物実験代替法学会学術大会市民公開講座（公開） 等

●論文及び学会発表

- －シンポジウム「経産省プロジェクト ARCH-Tox⁵研究成果報告会 ー毒性評価のパラダイムシフトに向けてー」（日本動物実験代替法学会第 28 回大会・横浜）
- －シンポジウム「経済産業省プロジェクト 新規反復投与毒性試験代替法の開発：

ARCH-Tox」（第 43 回日本毒性学会学術年会、名古屋）

●データの公表

- －取得した毒性データの公表
有害性評価支援システム統合プラットフォーム（HESS）/HESS-DB（前 METI-PJ で開発）にて 2015 年 7 月に公開済み⁶
- －取得した遺伝子発現量データの公表⁷

●プロトコルの公表⁷

- 受託試験の実施（2016 年 10 月時点の民間利用実績：11 件）

◆OECD テストガイドライン化に向けた取り組み

民間利用に向けた取り組みに加え、以下を実施した。

- OECD EAMGST⁸での発表（4 遺伝子で肝臓における発がん性を予測できることに好印象）
- OECD への提案（Preliminary SPSF⁴の提出）

⁵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の呼称

⁶ http://www.nite.go.jp/chem/qsar/hess_update.html

⁷ http://www.ceri.j.or.jp/research_assistant_project/tox_omics.html

⁸ EAMGST：Meeting of the Extended Advisory Group on Molecular Screening and Toxicogenomics

◆今後の予定

●定量 PCR 法による発がん性予測についての標準化作業準備

「平成 28 年度化学物質安全対策（遺伝子解析を用いた発がん性等評価法開発に関する調査）」において、以下を実施する。

－試験結果の受入れ基準策定

－検証試験のための被験物質選定

－Preliminary SPSF への各国からのコメント対応等

●H29 年度以降の経済産業省のプロジェクトにおいて、メカニズム研究等の実施を提案する。

5. 研究開発の実施・マネジメント体制等

1) 研究開発計画

本事業では、限られた期間及び費用の中で複数のエンドポイントについての試験法開発を進める必要があったことから、開発を行うためのデータの少ない腎臓がん及び腎毒性を中心とした被験物質選定・動物試験をする方針を早期に決定されるとともに、神経毒性については遺伝子発現量解析により神経毒性が評価可能であるかを確認するフィージビリティと位置づけた研究開発が進められた。

主要臓器（肝臓・腎臓）における一般毒性及び発がん性に関する開発については、基本計画が前倒しに進められ、事業の早い段階（3年目）までに22物質/25試験が実施されたことで、当初予定よりも早く中間評価時点でプロトタイプ構築に至ることができた（当初予定は、遺伝子発現量データ取得報の構築、データ取得及び遺伝子絞込みまで）。最終年度までの5年間で35試験/32物質の試験を実施、試験法構築だけでなく、外部データを用いた検証までが行われた。

神経毒性については予定通り、中間評価時点までに遺伝子発現量解析により神経毒性評価が可能であるかを結論し、事業終了時までには得られた科学的知見に基づく方法論が確立された。

なお、当初の基本計画には、免疫毒性の検出方法の開発を含んでいたが、フィージビリティスタディとして、免疫関連組織を対象とした遺伝子発現量解析と表現型の変化から免疫毒性影響評価手法の開発を検討されたが、免疫毒性影響評価を行う上で最も重要な臓器と想定された脾臓での影響評価手法の確立が困難と考えられる結果となり、外部有識者による研究開発推進委員会（平成25年2月開催）でのコメント等を踏まえ、PL及び経済産業省は当該毒性の検出方法の開発に関し、現時点において技術的に困難であると判断され、本基本計画から削除された。

2) 開発研究実施者の適正

本事業の開発研究実施者は一般財団法人化学物質評価研究機構及び国立大学法人東京農工大学である。一般財団法人化学物質評価研究機構は、前身のプロジェクト(NEDO プロジェクト「高精度・簡易有害性（ハザード）評価システム開発」)に参画して、高品質な遺伝子発現量データの取得やバイオインフォマティクス技術を用いたデータ解析による試験法開発に従事した実績があるとともに（特許取得等）、経済産業省で実施した内分泌かく乱作用物質に関わる試験法の開発事業において、複数の試験法開発及びOECDテストガイドライン化⁹に貢献している。このように、遺伝子発現解析に基づく試験法開発の実績だけでなく、開発試験の標準化（OECDガイドライン化）に向けたノウハウを有しており、本事業の実施者としての適正がある。また、国立大学法人東京農工大学

⁹ ヒト健康影響に関するガイドラインへの貢献；

[Test No. 455: Performance-Based Test Guideline for Stably Transfected Transactivation In Vitro Assays to Detect Estrogen Receptor Agonists and Antagonists](#)

[Test No. 458: Stably Transfected Human Androgen Receptor Transcriptional Activation Assay for Detection of Androgenic Agonist and Antagonist Activity of Chemicals](#)

[Test No. 493: Performance-Based Test Guideline for Human Recombinant Estrogen Receptor \(hrER\) In Vitro Assays to Detect Chemicals with ER Binding Affinity](#)

[Test No. 456: H295R Steroidogenesis Assay](#)

[Test No. 441: Hershberger Bioassay in Rats](#)

[Test No. 407: Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents](#)

[Test No. 440: Uterotrophic Bioassay in Rodents](#)

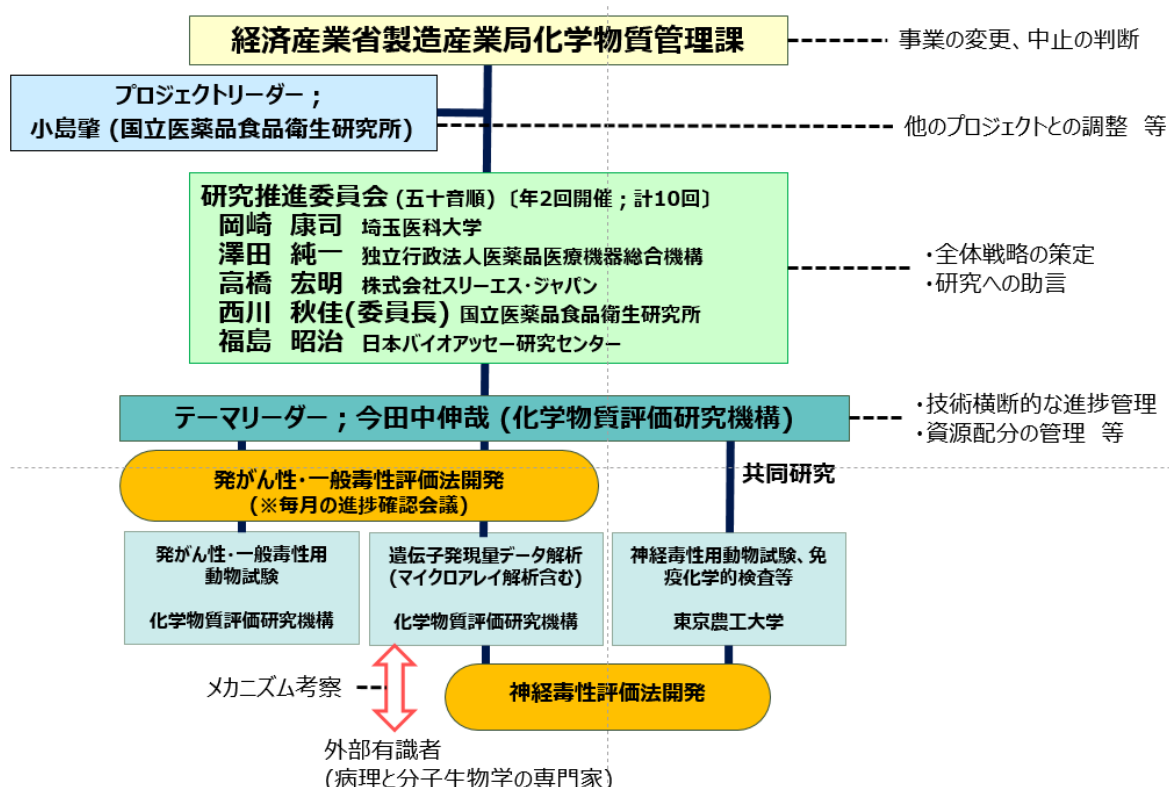
では、神経毒性や発がん性等について病理学的手法だけでなく、オミクス技術を含む分子生物学的アプローチを取り入れた研究を実施しているとともに、化学物質の有害性評価にも精通しており、本事業の実施者としての適正がある。

3) 研究開発の実施体制

本「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」には、本事業「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」と「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」の研究開発項目がある。事業全体としての事業統括及び研究開発項目間の調整を行うプロジェクトリーダーとして、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の小島肇室長が経済産業省により指名され、以下に示す実施体制の下、研究開発を実施した。

プロジェクトリーダーの下には、専門家から構成される研究推進委員会を設置し（年2回（計10回）の開催）、全体戦略の策定、研究への助言を受けつつ研究開発を進めた。研究推進委員会のコメント等は実施計画に柔軟に反映した。本事業のテマリーダーとして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の今田中伸哉所長を配し、技術横断的な進捗管理、資源配分の管理等を行った。一般財団法人化学物質評価研究機構で実施される研究テーマについては月に1回程度、国立大学法人東京農工大学で実施される研究テーマについては3ヶ月に1回程度の頻度で進捗確認を行うとともに、研究関係者間での開発促進のための議論を行った。さらに、本事業において、生物学的アプローチによる遺伝子選定を行う際、メカニズム考察が必要となったため外部有識者との個別ディスカッションを計5回実施した。

なお、以下に示す体制は形式的にはなくなるが、プロジェクトリーダーや研究推進委員会の有識者等とは密接なコンタクトが可能であり、実質的には本体制が維持できる。



4) 国民との科学・技術対話の実施などのコミュニケーション活動

本事業では国民とのコミュニケーション活動の一環として、計 7 件の講演等を実施し、分かり易く国民に説明し、コミュニケーションする機会を設けた。以下に実施した講演の例を示す。

武吉正博. 新規経済産業省プロジェクト「遺伝子プロジェクト」 第 24 回日本動物実験代替法学会学術大会. 市民公開講座「日本における代替法研究の新しい胎動」, 2011, 宮城.
 松本博士. 遺伝子発現変動を用いた化学物質の毒性予測. CERI 寄附講座 九州大学大学院工学研究院応用化学部門 「先端材料化学 ～設計・構造・物性から機能化まで～」, 2012.
 齋藤文代. 遺伝子発現量データを用いた新たな毒性評価方法の開発 第 17 回化学物質評価研究機構研究発表会, 2012.

5) 資金配分

本事業の平成 23 年度～27 年度の資金配分を以下に示す。適切に研究成果を出すことができたことから、配分は妥当であったと考えられる。

(千円, 税込み)

	H23	H24	H25	H26	H27	合計
一般毒性及び発がん性に関わる動物試験、遺伝子発現量解析等 [一般財団法人化学物質評価研究機構]	151,935	141,664	133,791	119,347	108,638	655,376
神経毒性に関わる動物試験、免疫組織学的検査等 [東京農工大]	20,790	16,729	18,994	12,960	11,361	80,835
免疫毒性に関わる動物試験等	7,350	6,982	-	-	-	14,332
合計	180,076	165,376	152,786	132,307	120,000	750,545

6) 社会経済情勢等周囲の状況変化への柔軟な対応

事業方針を大幅に変更する状況変化はなかったが、OECD テストガイドライン化において AOP が求められる傾向が強くなったことから、事業最終年度に遺伝子発現データに基づくメカニズム考察等について AOP として整理した。本対応は今後、*in vitro* 試験法整備等において着目すべき機序を明らかにする等の観点において有用な材料となる。

7) 知財への考え方

本プロジェクトにより開発した試験手法は OECD ガイドライン化等による国際標準化により幅広く普及させることを前提としているため、積極的な特許出願は行わない方針とした。

6. 費用対効果

一般毒性、発がん性及び神経毒性の試験法開発を目的に、本事業では総額約 7 億 5,000 万円が投入されている。

ここで、本事業で開発した試験法は 28 日間反復投与毒性試験に組み込んでいることからスクリーニング試験として位置づけることが適切であり、現行の確定試験を代替するものではない。しかし、従来は個別の試験で評価を行わなければならなかった試験を一つの動物試験に集約できることが本事業で開発した手法の最大のメリットである。

遺伝子発現解析による発がん性評価は、事業者による自主管理を目的とした利用が多い。一般に、発がん性の評価を行う場合、遺伝毒性発がん性物質については、通常 Ames 試験や *in vivo* の小核試験、遺伝子組換え動物を用いた試験等で評価される（ただし、Ames 試験については、通常の社内スクリーニング、規制対応等で実施されていることが想定されるため今回の試算には含めない）。一方、非遺伝毒性発がん性物質については、現行では *in vitro* の評価のみでは難しく、中期発がん性試験が唯一の試験である。仮に、本事業で開発した遺伝子発現変動を用いた評価を新規化学物質のスクリーニング毒性試験である 28 日間反復投与毒性試験に組み込んだ場合、定量的な発がん性評価に必要な追加費用は 250 万円程度であり、発がん性スクリーニングではあるものの、大きくコストダウンすることができる（Ames 試験を除く現行の *in vivo* 試験の総額を 2,000 万円とすると、1,750 万円の削減となる）。仮に 50 物質について、本事業で開発した発がん性スクリーニングを実施すると、総額 7 億 5,000 万円が削減され、50 物質の民間利用で、投資額を回収できることになる。

発達神経毒性については、従来、スクリーニングの評価対象として明確に扱うことができなかった。しかし、本事業で考案した方法論を実用化レベルにすることができれば、一般毒性や発がん性を評価するスクリーニング試験において、発達神経毒性についても評価が可能になる。発達神経毒性評価が可能になることの、明確な費用対効果を試算することはできないが、従来評価できなかった項目が、追加のサンプル解析をするだけでスクリーニング可能になることのメリットは非常に大きいものとする。

一般毒性については、専門家による判断を行うとしながらも、ニーズに応じて客観的な指標も提供できるようになったことで、スクリーニングにおける優先順位付けが容易になった。また、最大の利点としては、*in vivo* データに基づき、マーカーになる遺伝子を特定できたことであり、今後、*in vitro* 化、*in silico* 化する際の標的となる情報を提供できるようになり、これらの標的を活用することで、より一層の *in vitro* 化、*in silico* 化を促進することができ、本事業の副次的ではあるが、今後の研究開発に大きく貢献する成果と考える。

②. 肝臓毒性、腎臓毒性及び神経毒性 in vitro 試験法の開発

1. 事業アウトカム【複数設定可】

事業アウトカム指標

①化学物質リスク管理全般への活用

動物実験から細胞実験に移行することで以下のような活用が可能

- ・ 毒性プロファイルが不明の多数の化学物質の安全性の予測・評価
- ・ 安全性が不明の多数の化学物質の安全性試験の優先順位付け
- ・ 実験動物削減による動物福祉の推進

安全性評価に係る費用は研究費の約 20%を占め、現在、我が国化学産業においては年間約 1500 億円と推定される。当該事業で開発した in vitro 試験法の普及により、安価且つ短期間での化学物質の安全性の予測・評価が可能となり、安全性評価にかかる費用は数年後には大幅に低減することが期待される。さらに、例えば、開始から報告書作成まで約半年を要する 28 日間反復投与毒性試験等の実施回数が減少することにより、化学物質開発に係る開発期間が大幅に短縮される。またこれまで実験動物で行われていた安全性試験評価が、in vitro 試験法に代替されることにより実験動物の削減が見込まれるとともに、国内企業が実施している動物実験廃止の動向を加速することが予想される。

指標目標値

事業開始時（平成 23 年度）	計画：試験法立案	実績：達成済み
中間評価時（平成 25 年度）	計画：試験法開発	実績：達成済み
事業終了時（平成 27 年度）	計画：試験プロトコールの作成	実績：肝臓、腎臓、神経毒性 in vitro 試験法に関する各プロトコールの作成
事業目的達成時（平成 29 年度予定）	計画： ・ 各種試験法の公定法化またはその可能性の検討 ・ 国内企業（化学・食品・医薬・農薬等）に対する動物実験の代替となる新たな in vitro 試験法の提供	

②試験方法の技術移転による国内企業の産業の創出と国際競争力の強化

- ・ 新規受託ビジネス開始

3次元細胞培養の国際市場は 2016 年の 4 億 6680 万米ドルから、2021 年には 13 億 4520 万米ドルの規模に成長すると予測されている。2014 年の国内開発業務受託機関(CRO)の売上高は 1435 億円であるが、当該事業で開発した in vitro 毒性試験法を CRO に提供することにより事業の拡大と将来的な国際競争力の強化に貢献できるものと予測される。現在の 3次元細胞培養の主要標的臓器は肝臓であること、さらに腎臓障害試験法として活用できる有用な技術はまだ開発されていない状況を勘案し、当該事業で開発した in vitro 試験法は安全性試験分野における新規市場

の獲得に貢献するものと期待される。

・企業における自社製品開発における活用

神経毒性に関しては、例えば農薬企業においては各種の神経毒性試験（急性神経、亜急性神経、発達神経毒性）の実施が要求されており、全て試験を実施する場合はそのコストは1億円を超える。今回、提案する in vitro 神経毒性試験を用いることにより、早期に神経毒性ポテンシャルを認識し、毒性の低減した、より安全性の高い製品を初期開発段階でスクリーニング出来れば大幅な開発コスト削減が可能となる。

指標目標値

事業開始時（平成23年度）	計画：試験法立案	実績：達成済み
中間評価時（平成25年度）	計画：試験法開発	実績：達成済み
事業終了時（平成27年度）	計画：試験プロトコールの作成	実績：肝臓、腎臓、神経毒性 in vitro 試験法に関する各プロトコールの作成
事業目的達成時（平成29年度予定）	計画： ・国内受託機関への試験法の技術移転および特定企業との試験法を用いた共同研究開始 ・動物実験による安全性試験を中止した国内企業（化学・食品）に対する動物実験の代替となる新たな in vitro 試験法の提供	

③各種試験に関連する試薬・機器の販売促進・開始

- ・ルシフェラーゼ関連製品の拡販（東洋紡製品の TripLuc 試薬や D-luciferin 等）
- ・試験キットの販売
- ・試験用細胞・動物販売
- ・発光測定装置・参照用光源等の販売
- ・3次元培養細胞対応ハイコンテンツアナライザー・ソフトウェア

製薬企業で行なわれている創薬スクリーニングや安全性試験ではハイコンテンツアナライザーが普及しているが大部分が海外企業に占められている。また現状のハイコンテンツアナライザーは3次元培養細胞に対応していない。腎毒性では3次元培養細胞に対応している3次元培養細胞対応ハイコンテンツアナライザー・ソフトウェアを当該事業の成果を元に開発を開始しており、上市を目指している。これらの機器およびソフトウェアにより新規市場参入が期待できる。

一方、発光試薬および発光計測装置の市場は年率2~3%の増加を示し、その国際市場は発光試薬300億円、発光計測装置1200億円と推定される。しかし、国際市場における日本企業のシェアは数%に留まり、大部分が米国企業に占められている。当該事業で開発した in vitro 毒性試験法の普及および公定法化により、発光試薬・発光装置関連の国内企業の販売促進、さらには国際市場への新規参入とシェアの増加が期待される。

指標目標値		
事業開始時（平成23年度）	計画：試薬・機器の立案	実績：達成済み
中間評価時（平成25年度）	計画：試薬・機器の試作と検証	実績：達成済み
事業終了時（平成27年度）	計画：試薬・機器（装置）の作成	実績： ・ルシフェラーゼ関連試薬3種（東洋紡より販売中） ・試験用細胞7種（一部は販路相談中） ・装置は共同で開発中 ・試験用動物1種（販路相談中）
事業目的達成時（平成29年度予定）	計画：販売に向けた、検証、販路の開拓と販売	

2. 研究開発内容及び事業アウトプット

（1）研究開発内容

鳥取大学および産業技術総合研究所で基本特許を有している、人工染色体ベクター技術および生物発光レポーター技術を有害性評価試験法開発に応用し、ハイスループットスクリーニング試験系を開発する。そのためにまず、様々なエンドポイントについて培養細胞の発光量により有害性を評価できる基盤システムを構築する。有害性評価のエンドポイントとしては、主に肝障害、腎障害、神経障害などの毒性が観察される（げっ歯類の発がん性試験では45%が肝臓、次いで13%が腎臓でがんの発生が認められる）。したがって、構築した基盤システムを用いて反復投与毒性試験における肝臓毒性および腎臓毒性評価可能な *in vitro* 試験法、並びに神経毒性を評価可能な *in vitro* 試験法を開発する。

さらに安全性評価を実施している国内化学企業等への技術移転および国際規格化を見据え、論文発表等での成果発信・特許出願による知財確保に加え、開発した肝臓・腎臓・神経における各々の *in vitro* 毒性試験法の標準的プロトコールを作成する。

（2）事業アウトプット【複数設定可】

事業アウトプット指標

日本で開発された先端技術を活用し、化学物質の有害性の *in vitro* 評価系を開発するためには、評価組織細胞の機能を維持または組織構造を形成した培養細胞を作製し、それらを用いた試験系を構築する必要がある。そのためには以下に示した課題を達成する必要がある。

(a) 肝臓毒性 *in vitro* 試験法の開発

- 1) 肝臓毒性に関連すると考えられるマーカー遺伝子の選定と人工染色体ベクター作製
- 2) 人工染色体ベクター導入マウス ES 細胞作製
- 3) 人工染色体ベクター導入遺伝子改変マウス作製
- 4) 肝臓細胞の三次元培養等による培養細胞の樹立
- 5) 樹立した培養細胞を用いた肝臓毒性を評価系の構築と試験法プロトコール案作成

6) 国際標準化にむけた取り組み

(b) 腎臓毒性 in vitro 試験法の開発

- 1) 腎臓毒性に関連すると考えられるマーカー遺伝子の選定と人工染色体ベクター作製
- 2) 人工染色体ベクター導入マウス ES 細胞作製
- 3) 人工染色体ベクター導入遺伝子改変マウスを作製
- 4) ラット腎臓細胞の三次元培養等による培養細胞の樹立
- 5) 樹立した培養細胞を用い、腎臓毒性を評価可能な試験系の構築と試験法プロトコール案作成

(c) 神経毒性 in vitro 試験法の開発

- 1) 神経毒性に関連すると考えられるマーカー遺伝子の選定と人工染色体ベクター作製
- 2) 遺伝子導入マウス ES 細胞作製
- 3) 遺伝子導入マウス ES 細胞の分化誘導及び培養等により神経細胞の培養細胞の樹立
- 4) 樹立した培養細胞を用い神経毒性を評価可能な試験系の構築と試験法プロトコール案作成
- 5) 国際標準化にむけた取り組み

(d) ハイスループットスクリーニング試験系の構築に向けた基盤技術の開発

- 1) 人工染色体ベクターの性能の検証
- 2) 試験系の設計私案の作成
- 3) 人工染色体ベクターの性能検証
- 4) 当該ベクター及び遺伝子改変マウスの個体・臓器等の発光検出の検証および試験系の測定条件の最適化
- 5) 国際標準化にむけた取り組み

指標目標値（計画及び実績）

(a) 肝臓毒性 in vitro 試験法の開発

事業開始時（23年度）	計画：事業アウトプット指標の1)～5)まで	実績：変更無し
中間評価時（25年度）	計画：事業アウトプット指標の1)～4)まで	実績：進行中もあるが、1)～4)までほぼ達成。
事業終了時（27年度）	計画：事業アウトプット指標の1)～5)まで	実績：1)～5)まで達成。 6)の国際標準化にむけた取り組みについては、経済産業省平成28年度化学物質安全対策事業（発光レポーターを導入したマウス初代肝細胞を用いた in vitro 肝毒性試験法開発に関する調査）で実施中。

(b) 腎臓毒性 in vitro 試験法の開発		
事業開始時（23年度）	計画：事業アウトプット指標の1)～5)まで	実績：遺伝子改変マウスから腎臓様構造体を形成するマウス腎臓幹培養細胞を樹立することが難しいことが判明したことから、すでに三次元培養による細胞の樹立に実績のあるラット腎臓幹細胞等を用いることとした。
中間評価時（25年度）	計画：事業アウトプット指標の1)～3)まで	実績：進行中もあるが、1)～3)までほぼ達成。
事業終了時（27年度）	計画：事業アウトプット指標の1)～5)まで	実績：1)～5)まで達成。
(c) 神経毒性 in vitro 試験法の開発		
事業開始時（23年度）	計画：事業アウトプット指標の1)～4)まで	実績：変更無し
中間評価時（25年度）	計画：事業アウトプット指標の1)まで	実績：進行中もあるが、ほぼ達成。
事業終了時（27年度）	計画：事業アウトプット指標の1)～4)まで	実績：1)～4)までほぼ達成。 5)の国際標準化にむけた取り組みについては、未定。
(d) ハイスループットスクリーニング試験系の構築に向けた基盤技術の開発		
事業開始時（23年度）	計画：事業アウトプット指標の1)～4)まで	実績：変更無し
中間評価時（25年度）	計画：事業アウトプット指標の1)まで	実績：達成。
事業終了時（27年度）	計画：事業アウトプット指標の1)～4)まで	実績：1)～4)まで達成。 5)の国際標準化にむけた取り組みについては経済産業省平成28年度国際標準化加速事業（発光株化培養細胞の保存管理法に関する国際標準化）で実施中。

3. 当省(国)が実施することの必要性

本研究は、多様なエンドポイントに関する迅速で効率的な有害性評価技術の開発を目標としており、開発した有害性評価手法について、将来的には、国際標準化にむけた取り組みを行い、実用化、普及を目指している。

①多様な研究機関の結集

本研究開発は、迅速活高効率な安全性評価手法を開発するものであり、その先導性ゆえ、基礎研究レベルのシーズを有する研究機関、大学を結集させて取り組む必要がある。

②知的基盤の形成に資する研究開発

本研究開発は、国内の化学物質管理の円滑な実施に資する研究開発であり、開発する安全性評価手法は、公平、中立な手法として信頼性を確保していくことが求められる。

③国際競争力強化のための国際ルールづくり

本研究開発は、行政的な取組みでの活用も想定しつつ、産業競争力を強化することを目的として国際標準化を目指すものであり、国が先導して開発を推進すべきものである。

以上のことから、本研究開発プロジェクトは、国が主導的に取り組むことが適当である。

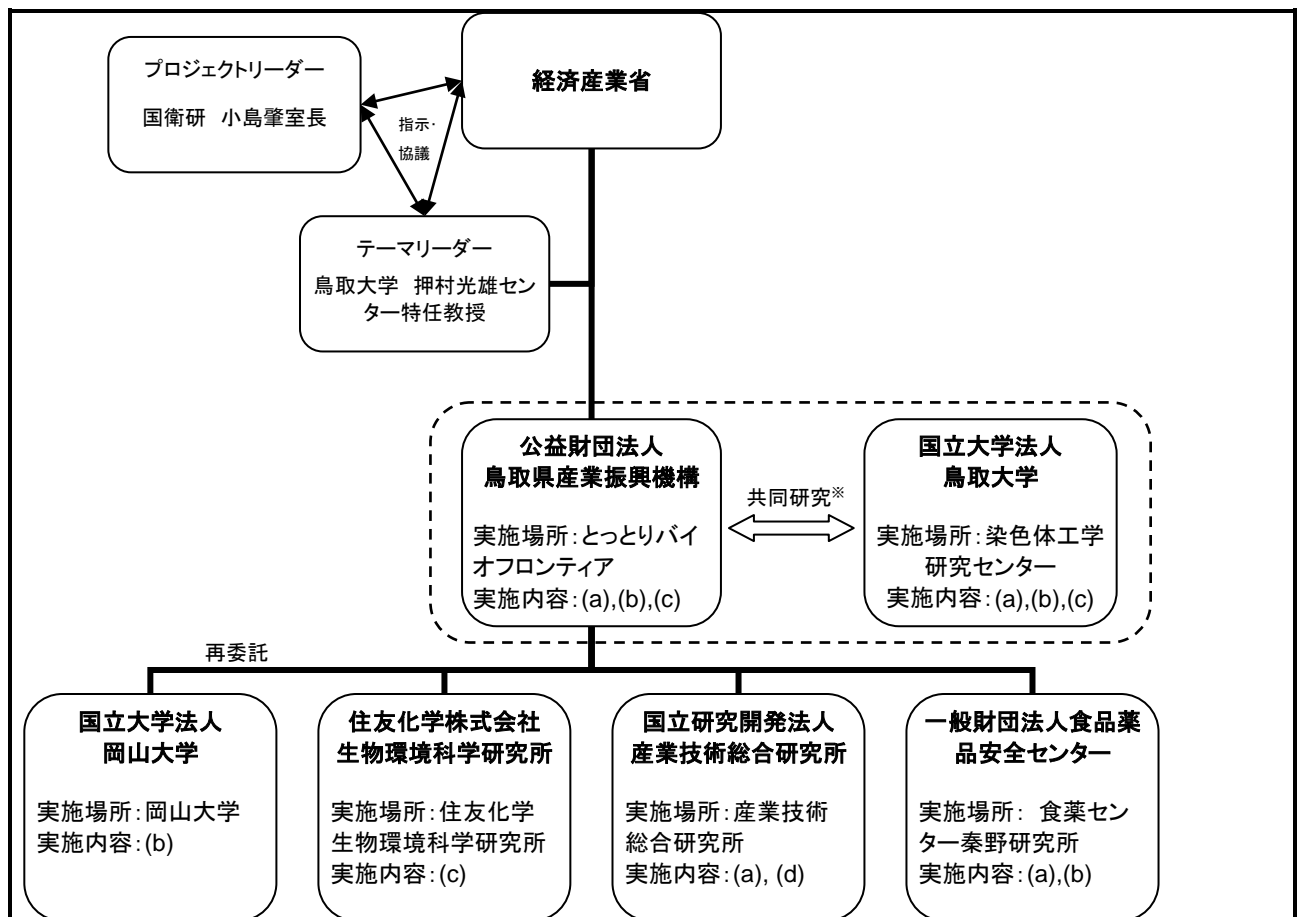
4. 事業アウトカム達成に至るまでのロードマップ

年度	平成23年	平成25年	平成27年	平成32年	平成37年
①化学物質管理先般への活用					
計画	試験法立案	試験法開発	試験プロトコルの作成	各種試験法の公定法化またはその可能性の検討	
・各種試験法の公定法化またはその可能性の検討				小規模検証試験	公定法化の可否検討
・国内企業(化学・食品・医薬・農業等)に対する動物実験の代替となる新たなin vitro試験法の提供	立案済み	試験法開発	プロトコル作成	国内企業への技術移転・活用	
②試験方法の技術移転による国内企業の産業の創出と技術力向上					
計画	試験法立案	試験法開発	試験プロトコルの作成	販売に向けた、検証、販路の開拓と販売	
・新規受託ビジネス開始口				受託機関への移転	
・企業における自社製品開発における活用口	立案済み	試験法開発	プロトコル作成	国内企業への技術移転・活用	
③各種試験に関連する試薬・機器の販売開始					
計画	試薬・機器の立案	試薬・機器の試作と検証	安全性試薬・機器(装置)の作成	販売に向けた、検証、販路の開拓と販売	
・ルシフェラーゼ関連製品の拡販(東洋紡製品等)口	立案済み	試作・検証	試薬作成	販売開始・販路開拓	
・試験キットの販売口	立案済み	試作・検証済み	キット作成・検証	販路開拓	
・試験用細胞販売	立案済み	試作・検証済み	細胞作製・検証	販路開拓	
・測定装置販売	立案済み	試作・検証済み	装置・検証	販路開拓	

5. 研究開発の実施・マネジメント体制等

人工染色体ベクターおよび生物発光レポーター技術を基盤とした反復投与毒性試験における肝臓、腎臓、神経毒性を評価可能な in vitro 試験法の開発を、下記の4テーマで実施する。

- (a) 肝臓毒性 in vitro 試験法の開発
- (b) 腎臓毒性 in vitro 試験法の開発
- (c) 神経毒性 in vitro 試験法の開発
- (d) ハイスループットスクリーニング試験系の構築に向けた基盤技術の開発



※公益財団法人鳥取県産業振興機構及び国立大学法人鳥取大学は共同研究契約を締結し協力体制により本事業を実施

総括プロジェクトリーダーとしての小島 肇氏は JaCVAM(日本動物実験代替法センター)の代表者、及び日本動物実験代替法学会会長であり、本プロジェクトの進捗管理を的確に実施できる。また、テーマリーダーの押村光雄氏は当該研究開発テーマの基本技術である人工染色体技術の開発者であり、テーマ全体について効果的に機能を発揮できる環境整備に的確な研究者であると言える。

染色体工学技術の鳥取大学を始め、腎臓前駆幹細胞作製技術を持つ岡山大学、神経毒性の研究を積み重ねた住友化学、発光レポーター技術を持つ産業技術総合研究所、及び動物実験代替法試験(in vitro 試験法)技術を持つ食品薬品安全センター等、本プロジェクト成果を得るに必要な技術・経験を持つ研究機関において実施した。

プロジェクト推進助言協力のため、5名からなる推進委員会(板垣 宏(横浜国立大学 教授)、松本一彦(学習院大学 非常勤講師)、宮城嶋利一(システム薬学研究機構 理事)、春山哲也(九州工業大学 教授)、一戸紀孝(国立精神・神経研究医療センター 部長))を設置した。推進委員会の実績は、平成23年度から平成27年度まで着実に毎年2回開催した。この他、本事業の推進状況を定期的に確認する目的で推進調整会議を原則毎年3回、平成27年度まで開催した。

「国民との科学・技術対話」については、本事業の受託者である公益財団法人鳥取県産業振興機構では鳥取大学と共同で、各種講座を一般市民参加の基に実施しており、平成23年度から平成27年度まで年間8項目ほどの公開講座を実施してきた。その詳細は参考資料に記載した。

本プロジェクトの平成23年度から平成27年度までの資金配分は下表のとおり実施された。研究開発の前半では、人工染色体ベクターおよび生物発光レポーター技術を基盤とした反復投与毒性試験における肝臓、腎臓、神経毒性を評価可能な *in vitro* 試験法を開発し、その後半では、肝臓、腎臓、神経毒性に関する試験プロトコール作成に基づいた課題を重点的に推進し、成果を上げた資金配分であると言える。

資金度配分 (単位：百万円)

年度 平成	23	24	25	26	27	合計
(a) 肝臓毒性 <i>in vitro</i> 試験法の開発	76	76	75	70	61	358
(b) 腎臓毒性 <i>in vitro</i> 試験法の開発						
(c) 神経毒性 <i>in vitro</i> 試験法の開発	17	17	17	12	12	75
(d) ハイスループットスクリーニング試験系の構築に向けた基盤技術の開発	10	10	10	15	17	62
合計	103	103	102	97	90	495

6. 費用対効果

本事業の実施によりもたらされる費用対効果は、以下のように期待できる。

本事業で開発を目指している *in vitro* 試験法は、日本発の OECD ガイドライン誕生も期待できる信頼性および再現性が高く、コストの低い試験法である。

動物を用いる試験、例えば28日間反復投与毒性試験の委託費用は1被験物質あたり600~1000万円が想定されるが、この試験は一般的に40匹の28日間の連続投与・症状観察と体重測定、生化学的検査、組織学的検査が必要であり、長期の試験期間とそれにかかる作業量(人件費)のウェイトが大きい。一方、本事業で開発した *in vitro* 試験法で試験を実施する場合、試薬や測定機器が必要となるが、短い試験期間で一人の作業員でも複数の被験物質を同時に処理することが可能である。発光レポーターは簡便で定量的に測定できることから、*in vivo* 試験法の10倍以上の試験数を実施できることになる。

また、化学物質の中でも農薬の安全性評価では、一般毒性試験に加えて、各種の神経毒性試験(急性神経、亜急性神経、発達神経毒性)の実施が要求されている。そのコストは、1化合物につき急性神経毒性試験で約1500万円、亜急性神経毒性試験で約3500万円、発達神経毒性試験で約8000万円と非常に高額である。今回、提案する *in vitro* 神経毒性試験は成獣期と発達期の神経毒性を幅広く検出できるように3試験から構成されており、1化合物につき、神経分化アッセイ(Test1)は約12000円、神経突起伸展アッセイ(Test2)は約16000円、また簡便な神経毒性試験(Test3)は約6万円と3試験合わせても約8万8000円(人件費等を除いた実費計算)と算出された。これは、*in vivo* 試験のコストと比較すると非常に低コストである。さらに、*in vivo* 試験は数か月から1年ほど期間を要する

のに対して、当該 *in vitro* 試験では、3 試験同時に 1 週間で実施可能であることから、多数の化学物質のスクリーニング用途に多大な力を発揮することが期待できる。よって、本事業に投資された費用は投入されうる費用に見合った効果が期待できる。

動物実験の廃止を求める社会的活動の高まりから、EU では 2013 年 3 月 11 日で化粧品すべての動物実験が廃止された。さらに化粧品業界だけでなく製薬や食品、化学といった企業に対しても、動物実験に反対する団体からは動物実験の廃止が求められている。実際に国際的に事業展開している国内食品メーカーや化粧品メーカーが動物実験を廃止している。一方で、自社製品の安全性試験は製品開発には重要であるため、新たに動物実験の安全性試験を代替した培養細胞等を用いた *in vitro* 試験法が必要となる。本事業で開発した *in vitro* 腎毒性試験は、生体の腎臓に極めて近い腎様構造体を用いた試験法であり、ラットを用いた *in vivo* 試験法を代替することが期待できる。これにより動物実験を廃止した国内企業でも新たな製品の開発を継続することが可能になる。

さらに今後、事業者がこれを活用して化学物質の有害性情報を低コストで取得して、自ら取り扱う化学製品の GHS 分類に活用したり、改正化審法下の届出データとして国に提供し、国が優先評価化学物質指定のためのスクリーニング評価に活用したりすることが期待できる。また、OECD テストガイドライン化が実現すれば、事業者による自主的な有害性評価ばかりでなく、改正化審法の審査制度においても正式に位置付けられる可能性が高まる。これらにより、化学物質を用いる産業の健全な発展及び化学物質による健康被害の未然防止が図られ、投入費用に比べ十分な効果が得られるものと考えられる。

II. 外部有識者（評価検討会等）の評価

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

1. 事業アウトカムの妥当性

本事業の成果により、国際的に動物実験の基準理念である3R原則が求める状況も背景とし、工業用化学品の開発段階における安全性やリスクを評価するうえで大幅なコスト削減が可能となり、特に多品種少量生産型の国内化学産業にとっては国際競争力の強化が期待される。本成果は国際的にも認知され、広く普及することが重要であるため、民間で広く利用されることを事業アウトカムの評価指標としている点は妥当である。

また、新規手法の利用を促進することは難しいと思われるため、まずは国内でのガイドライン化や国際標準化を行い、各国に本手法を普及して利用実績をつくることが求められる。そのためには非営利機関を活用して実用性評価を実証していくことも必要である。

一方で、現時点ではガイドライン化や国際標準化に向けた今後の取組が曖昧であるため、その具体化が必要である。今後の取組には本手法について実験方法の適正化を含めて作用機序に関してさらに踏み込んだ解析が含まれるべきである。

【肯定的所見】

- ・（A委員）本事業は化学物質の有毒性について、複数のエンドポイントの情報を単一試験から取得可能にすることを評価手法の開発を目的としている。現在の世界状況を鑑みるに事業アウトカムが実現した場合、化学物質評価についてのコストが著しく削減されることが期待されることから、国内における化学物質産業の国際競争力の強化は間違いないと期待される。
- ・（C委員）本事業については、工業用化学品の開発段階におけるリスク評価を実施するうえで本来必要なものであり、国際的に3Rが求められている状況でアウトカムの妥当性は十分評価できる。
- ・（D委員）「日本経済や国際競争力、問題解決に与える効果」を目指して、研究は注意深く進められているが、結果の実地応用（アウトプット）を考えるとまだ十分ではない。今後の展開が待たれる。
- ・（E委員）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を目指す本事業においては、研究成果が国際的にも認知され、普及することが重要な事業アウトカムになる。この観点から本事業の研究成果が民間で広く利用されることを事業アウトカムの評価指標とすることは妥当と考えられる。

【問題点・改善すべき点】

- ・（A委員）事業アウトカム評価指標として民間利用件数を設定しているが、新規手法の場合、民間企業利用を促進することは難しいと思われる。事業アウトカム実現のためには、法整備を含め非営利機関にてその実用性評価を具体的対象について実施することも必要である。
- ・（B委員）OECDのガイドラインになることを前提で、事業アウトカムの予測をしているが、OECDガイドラインとなるかどうかは不透明なので、同ガイドライン化に向けて努力する必要がある。
- ・（C委員）OECDのみならず各国各機関に本手法を普及し利用実績をつくることが求められる。
- ・（D委員）発がん性の評価には、例えばWHO/IARCでは長期動物実験結果が得られなくても

、M o Aによる判定を重視してきている。その意味で本事業は重要な意味を持つが、現状では網羅的解析の域を出ていない。この意味でさらに踏み込んだ解析を期待する。また、実験が雄のみで実施されたのはこの方法のグローバル化（経済の国際競争力に資する）を考慮するうえで弱点となる。

- ・（E委員）民間において一般的な化学物質の毒性評価に広く利用されるためには、先ず本邦におけるガイドライン化あるいは国際標準化が重要と考えられる。現在、肝発がん予測法がOECDに提案されているが、その他の研究成果についての標準化に向けた今後の取り組みが曖昧である。

2. 研究開発内容及び事業アウトプットの妥当性

肝臓・腎臓が標的臓器となる一般毒性、発がん性及び神経毒性である毒性エンドポイントの選択は妥当であり、これらに対応するマーカー遺伝子を選定できたことは評価できる。これにより、細胞レベルの情報と病理所見という生体内で階層が異なる現象を連結可能にしていることは、動物実験の代替となる毒性評価の発展に大きく貢献するものである。将来的には各国でこのような新技術を活用して有害性評価に取り組めるよう、本成果をOECDに提案して国際的な普及に努めている点は評価できる。

一方で、普及にあたっては、一般毒性の予測技術を28日間反復投与毒性試験に組み込むことのメリットを明確にしておくとともに、技術的には代謝、抱合化、蛋白結合等の要素を含めた詳細な作用機序の解明が必要となる。また、遺伝子発現データを解析する機械学習モデルとして、関連ベクトルマシン（RVM）も検討すべきである。

【肯定的所見】

- ・（A委員）肝臓・腎臓それぞれについて一般毒性や発がん性のマーカー遺伝子を選定したことは評価できる。各種疾病等においても、まずはマーカー遺伝子を選定が重要な第一ステップであることから、毒性評価分野でもこのマーカー遺伝子を選定できた事は極めて大きな成果であると言える。今後は選定したマーカー遺伝子の精度について、より詳細な研究が行われることを期待する。また、M o A/A O Pという異なった形式の情報（論文情報、発現情報、病理所見）を統合した新規手法を開発しており、細胞レベルの情報と病理所見という生体内で階層が異なる現象を連結可能にしていることは、今後の毒性評価に大きく貢献すると思われる。
- ・（C委員）化審法の場合、対象が本来生理活性を追求したのではなく、ほとんどのケースは肝臓、腎臓が標的臓器となる一般毒性および発がん性さらに神経毒性であり毒性エンドポイントの選択の妥当性は評価できる。また対応するマーカー遺伝子も妥当なものと思われる。
- ・（D委員）アウトカムは雄だけの結果であることからやや足りない感があるが、ほぼ達成されている。しかし、これを実地使用に移行するには充分では無い。
- ・（E委員）多くの化学物質の有害性を評価するためには、高い効率性と低コスト性を兼ね備えた新しい有害性評価技術の開発が必須となる。加えて、新しい技術を利用し、各国が連携して有害性評価に取り組む必要がある。本事業は、開発する新技術に求められる条件を明確にし、プロトコルの公表あるいはOECDへの提案を通じて新技術の普及に努めている点で評価できる。

【問題点・改善すべき点】

- ・（A委員）アウトプット指標として発現変動データの取得を敢えて設定する必要性が薄い。マイク

ロアレイによる発現データ取得は既に手法も確立しており、かつマウスの腎臓や肝臓細胞の発現情報取得については、すでに多くの知見が得られている。よって、本データ取得は当然実施すべき案件であり、あえてアウトプット指標にする必要はなかったと思われる。SVMを使用するのであれば、特徴量抽出をもっと機械学習的に実施してもよかったように見える。実際には行っているかもしれないが、2クラス分類を複数回行っていることから検定をしているかも不明。本事業の目的からすると多クラス分類を可能にするRVM等の手法も検討すべき。

- ・(C委員) メカニズムベースとしては化学物質は到達部位までの間に代謝、抱合化、蛋白結合等の要素が加わりAOP上の別の要素として今後、検討が必要では。
- ・(D委員) 雌のデータが必要。MoA解析による発がん評価を加える。
- ・(E委員) 発がん性及び発達神経毒性予測技術については明確なメリットが示されているが、肝毒性及び腎毒性予測技術を28日間反復投与毒性試験に組み込むことのメリットをどのように主張したいのかが曖昧である。現状では費用面及び作業面からみると負担増となる。遺伝子発現データからは毒性予測に係る貴重な情報が得られることは理解できたので、実際の試験デザインの中にどのような位置付けで肝毒性及び腎毒性予測技術を組み込み、それによりどのようなメリットが引き出されるかを明確にすべきである。特に国際的標準化を目指すならば重要な点と考える。

3. 当省(国)が実施することの必要性

本事業の成果は、国内化学産業の競争力強化につながり、また、きわめて科学的に公正な評価システムとしての共通基盤であり、今後の長期的でオープンな議論を要するガイドライン化や標準化さらには政策的利用も見据えると、国が主体となり技術開発を推進することは必要である。

また、民間企業においてもこのような開発に取り組むインセンティブがあり、多様な研究シーズを保有していることから、国の呼びかけにより、幅広く企業、研究機関を参加させて研究項目の拡充を図る余地があったと思われる。

【肯定的所見】

- ・(A委員) 本事業の目的である新規毒性評価システムは、直接企業利益につながるものではないが、大局的には化学物質産業界の基盤となる評価技術であり、中長期的には大きな国益をもたらるのである。よって、本事業のような研究開発は、国が主体となり技術開発を推進するとともに、法整備や、国際標準化を見据えることが重要である。
- ・(D委員) まだ完成していないので評価は難しいが、アウトプットへのある程度の展開は可能である。
- ・(E委員) 民間企業での研究活動については、主に継続性及び研究成果の普及の点が課題となる。本邦でのガイドライン化、更には国際標準化を考えた場合は、研究成果の公表と長期に渡るオープンな議論が必要になる。これらの観点から、国が本事業を実施したことは適切と考えらえる。

【問題点・改善すべき点】

- ・(C委員) 国(経済産業省)が実施する理由について民間企業が十分な研究開発が実施されないことやインセンティブが期待できないというのは違和感があり、国が実施する理由に直接つながるものではない。実際に製薬会社や一部の総合化学会社は実施しているし、コントラクトラボでも取り組んでいる。国が実施することの意義は、日本の化学産業の競争力を強化し産業振興につな

がり、さらにきわめて科学的に健全（客観的に公正な）な評価システムが構築できることを必要性とすべきである。

- ・（D委員）M○Aを考慮した分析が望まれる。
- ・（E委員）本事業の予算規模であれば、もう少し幅広い研究機関／研究者の参加を検討し、研究成果の拡充を図る余地があったのではないかと考える。

4. 事業アウトカム達成に至るまでのロードマップの妥当性

国際標準化を目指して様々な取り組みを積極的に実施していることは評価できるが、OECDテストガイドライン化に向けたステップ・バイ・ステップの展開については、さらに具体的な実施計画が求められ、各国専門家との科学的な意見交換を通じて本成果の信頼性を確立していく必要がある。またその中には実験手法や作用機序に基づく本手法の適用範囲の検証も含まれる。

【肯定的所見】

- ・（A委員）国際標準化を目標とし、様々な取り組みを積極的に実施していることは評価できる。取得データを積極的に公開しており、国の事業成果について真摯に実施していると評価できる。
- ・（C委員）OECDテストガイドライン化に向けたステップ・バイ・ステップの展開については更に具体的な実施計画の策定（定量PCR法による発ガン性予測標準化作業）が求められる。一般毒性、神経毒性は合わせて、各国の専門家との科学的な意見交換を通じ、内容を確立していくこと。
- ・（D委員）実地応用となると雌にあてはまらない可能性があり実用には時期尚早の感があるが、動物の使用を最小限にした高い確率で発ガン性を判定できる網羅的遺伝子解析法に道をつけたことは評価できる。
- ・（E委員）本事業の成果をもとに、引き続き新たな技術の開発が計画されていることは、評価できる点と考える。

【問題点・改善すべき点】

- ・（A委員）5年間のプロジェクトとしては、論文発表数と学会発表数（特に海外）が少ないように見える。ただし、本事業は国際的に競争している部分もあると思われるので、発表できない内容が多かったのかもしれない。
- ・（D委員）雌ラットにも応用できるか、データの追加または現状で雌にも応用できるか検証する漬用がある。M○Aとの関連も検証が必要。
- ・（E委員）現在OECDに提案している試験法を含め、研究成果の国際標準化に向けたフォローアップ作業に対応する体制作りが必要と考えられる。

5. 研究開発の実施・マネジメント体制等の妥当性

動物試験と発現解析を同一機関で行うことでうまく情報共有がなされるなど概ね適切に実施されている。

一方で実地応用へのスキームを含め事業アウトカム達成までの体制については明確になっていない印象がある。そのため、国際標準化に向けて今後はITやADME等の他分野の専門家や研究機関との連携も含めた体制づくりが必要である。

【肯定的所見】

- ・(A委員) 大きな体制としては特に問題ない。研究開発実施者のうち、動物試験と発現解析を同一機関で行うことで情報共有がうまくできていたのではないかと。
- ・(C委員) 開発計画、実施者等適正である。実施体制として外部有識者は、ITやADMEの専門家等も加えておくべきかと。
- ・(D委員) 開発工程においては問題はない
- ・(E委員) 概ね研究開発計画に従って研究が遂行され、目標値も達成している。これらは、マネジメント組織が適切に設置され、能力のある研究開発実施者が配置されたことの反映と考える。

【問題点・改善すべき点】

- ・(A委員) 遺伝子発現データ取得に関しては、既に多くの研究機関も実施しており、各種モデル生物での発現データ取得に関する技術・知見も相当量蓄積している。同一機関で実施するメリットも数多くあるが、このような専門の研究者や機関とも連携することでもっと多くのデータ取得・知見抽出が可能であったと思われる。
- ・(C委員) 当初基本計画にあった免疫毒性の開発は、脾臓での影響評価が困難である理由で削除されているが、免疫毒性自体は重要なエンドポイントであり他の毒性とも関与することから再検討の余地はないか。
- ・(D委員) 実地応用へのスキームがはっきりしない
- ・(E委員) 事業終了後における、事業アウトカム達成までの間の研究開発の実施・マネジメント体制については、明確になっていない印象を受けた。

6. 費用対効果の妥当性

現時点では具体的な議論はできないが、本成果が国際標準化されることにより費用対効果は十分に認められると考えられる。

【肯定的所見】

- ・(A委員) 本事業が社会実装された場合、化学物質開発の時間と費用の両方を削減するのみならず、化学物質を材料とした製品開発へも波及効果が期待される。事業アウトカム実現のために、本事業アウトプットの社会実装にむけた取り組みを期待する。
- ・(C委員) 発ガン試験のみならず一般毒性、神経毒性全体で1ユニット1.5億円から2億円くらいが相場ではないかと思う。コストダウンとしてはもう少し大きく見積もれるはず。ただし、本来発がん性は、各国の登録、申請において義務付けられているケースもあり、本法が採用されて始めて議論できる。スクリーニングレベルでの費用対効果は、化審法のカバーする工業用化学品のなかで議論すべきかと。
- ・(D委員) アウトプットが明確でない。その意味で費用対効果の評価は難しい。
- ・(E委員) 発がん性予測手法が国際標準化されることだけでも、費用対効果は十分に認められると考えられる

【問題点・改善すべき点】

- ・(D委員) 今後アウトプットに向けての戦略が求められる。

- ・(E委員) 標準化されるためのバリデーションが実施されておらず、実際に期待する費用対効果が得られるかは未定である。

7. 総合評価

事業アウトプットの目標はいずれも達成され、事業アウトカムの達成に向けて国際標準化の取り組みも開始されており評価できる。

今後はOECDテストガイドライン化に関連する取組が中心となるが、その中には医薬品・農薬等の所轄官庁や研究機関との連携、内外の毒性学会での発表や研究者・企業との情報交換の活発化、国際動向の常態的なモニタリングが含まれるべきである。また、技術的には作用機序との相関性の検証、バリデーション試験等のフォローアップが重要となる。まずは、これらの作業に対応できる体制作りを行うべきである。

【肯定的所見】

- ・(A委員) 全体的に良く設計された戦略で行われた事業であり、毒性評価指標となりうるマーカー遺伝子の選定等の特筆すべき成果も得られている。毒性評価で困難な、遺伝子発現と病理所見を統合したMOA/AOPモデルの構築など、今後の毒性評価に必要な技術基盤開発を行っている。
- ・(B委員) 本事業の目的、目標は明確である。
- ・(C委員) 本開発プロジェクトの目的、手段、必要性などいずれも妥当と考える。
- ・(D委員) アウトカムについては一定の結果が得られているが、雌についてデータが無い。また解析結果においてMOAとの相関がなされていない。
- ・(E委員) 国主導で進めるべき重要な事業であると考え。事業アウトプットについては、いずれも目標を達成しており、特に肝発がん性簡便予測法については国際標準化に向けた取り組みが事業期間内に実施されたことは評価できる。事業アウトカムの指標である民間利用件数も目標を達成しており、研究成果の実用化に対する実績が示されたことは評価できる。

【問題点・改善すべき点】

- ・(A委員) 毒性研究者だけでなく、遺伝子発現解析や情報解析等についても専門家と連携することで、さらなる成果を上げることができたのではないかと。
- ・(B委員) 得られたデータを分類する場合、境界領域となる物質の取扱についても検討することが望まれる。
- ・(C委員) 民間企業との情報共有、実態把握をしっかりと行うこと。また本分野の国際的な動向を常にモニタリングされたい。OECDテストガイドライン化のために、医薬品および農薬を所轄する官庁、機関との連携を強化。また国際学会(SOT)等の発表を活発化されたい。
- ・(D委員) アウトカムについては一定の結果が得られているが、雌についてデータが無い。また解析結果においてMOAとの相関がなされていない。
- ・(E委員) それぞれの研究テーマについては一定の成果が示されており評価できるところであるが、評価用資料には、本事業の成果が28日間反復投与試験に組み込まれることで、これまで毒性エンドポイントごとに個別の異なる動物試験が必要だった有害性評価手法を、1本の毒性試験でマルチに検出できるような試験系となり、もって大幅なコスト削減と時間短縮、動物数削減が可能に

なるとしている。当該主張からすれば、肝毒性及び腎毒性予測の手法も組み込まれることになるが、そのメリットが曖昧と考えられる。得られた研究成果を生かすため、例えば既存の検査項目と置き換えるなど、肝毒性及び腎毒性予測の手法をどのような位置付けで28日間反復投与試験に組み込むことが可能かを明記すべきと考える。また、国際標準化においてはバリデーション等のフォローアップ作業が重要となってくる。当作業についても引き続き対応できる体制作りを期待する。

8. 今後の研究開発の方向等に関する提言

本事業では、毒性エンドポイントと遺伝子発現量データの関係性をバイオインフォマティクス及び生物学的反応に基づき構築した新しい評価システムが開発されている。

今後は有害転帰経路（AOP）の深耕化、評価手法の適用性の拡大等により、さらに本手法をグローバルな視野で貢献できるよう発展させるとともに、この成果を国内産業の競争力強化につなげるため、国際標準化により国際的に普及させる努力が必要である。

【各委員の提言】

- ・（A委員）基本的には良い成果を上げているものの、個別の課題・手法等についてもっと効率よくできたと思われる箇所が数点ある。本事業で得られた知見は極めて有用な情報であることから、これらの知見を活かした社会実装実現を期待する。
- ・（B委員）日本国内だけでなく、OECD等グローバルな視野で、世界的に貢献できるような日本発の研究事業が望まれる。
- ・（C委員）全般のシステム開発については毒性エンドポイントと遺伝子発現量データの関係性をバイオインフォマティクスおよび生物学的反応に基づき構築されたものであり妥当かつ優れたものかと判断する。今後の展開についてMOAとして各組織の暴露量、暴露時間のキネティクスな部分（化学物質の体内動態等）は予想上必須の情報であり、さらにトキシコジェノミクスや蛋白結合、トランスポーター等の予測に関連する要素を今後、AOPの要素ととらえこれらを整理、導入することにより包括的システムが確立できればと思います。
- ・（D委員）雌ラットにおけるデータの検証と解析結果のMOAとの相関の解析あるいはデータの追加が必要である。
- ・（E委員）本事業の研究成果により、毒性予測／診断における遺伝子発現データの有用性が示されている。本事業では、肝毒性、腎毒性、発がん性及び神経毒性にフォーカスした研究が行われたが、引き続き他の毒性予測／診断に発展させる取り組みが行われることを期待する。将来的には、動物からヒトのリスクを予測する技術開発への挑戦を望む。

<上記提言に係る担当課室の対処方針>

（評価検討会終了後に、提言に対する対処方針を整理し、追記する。）

国際標準化に向け、さらなるメカニズム情報の補強（AOPの深耕化）、適用範囲の明確化、試験成立要件の検討等を行い、SPSFの提出を目指すとともに、開発した試験法の普及のために国際会議や学会等での発表等を行う。

②. 肝臓毒性、腎臓毒性及び神経毒性 in vitro 試験法の開発

1. 事業アウトカムの妥当性

本分野は世界的にニーズのあるリスク管理領域であり、3Rの推進等の諸情勢から必要不可欠なアウトカムが指標とされている。また、企業活動としても新規化学品の開発につながるなど国際競争力の観点からも定量的な目標値が適確に設定されている。

一方、試験方法の信頼性の確保や国際標準化に向けた具体的推進プランの説明が薄く、今後はより現実的な方法論・技術の確立が必要である。また、他国から競合する新規性の高い試験法が提出される可能性があるため、海外の動向について十分調査し、その結果を反映する視点も望まれる。

【肯定的所見】

- ・(F委員) 事業アウトカムは明確であり、事業目標自体は明確かつ妥当性があり、高い必要性を認める。事業が達成されることにより、様々な経済効果、日本の競争力強化などのメリットが期待できるため、無駄なく速やかに進めていく必要がある。
- ・(G委員) 低コスト、短時間、動物愛護等の優位性を担保したin vitro試験法は、独自に開発した国内発の技術であり、アッセイプロトコル作成まで達成している点は高く評価できる。試験に関連する民間利用について、当初の目標3件をクリア(5件達成)しており、今後のさらなる拡販が期待できる。
- ・(H委員) 本分野は世界的にニーズのあるリスク管理領域であり、3Rの推進等の諸情勢から必要不可欠なアウトカムが指標とされている。企業活動としても新規化学品の開発、上市において優れたアウトプットが期待できる。さらに、これらの開発成果が医療診断機器や測定機器の進歩を加速し産業基盤の向上につながる。
- ・(I委員) 事業目的をふまえ、定量的な指標を含む妥当な目標値が設定されている。
- ・(J委員) 事業アウトカム指標の妥当性・設定理由などに関しては、国際競争力の点・定量的な目標値が適確に設定されている。

【問題点・改善すべき点】

- ・(F委員) 事業アウトカムの最終目標(とくに、信頼性の確保、国際標準化)に向けた具体的研究推進プランの説明が薄く、今後の具体的な進捗に向けてより現実的な方法論・技術の確立が必要であると感じる。それらを踏まえて、どのように国際化(信頼性を担保したうえでの標準化)することが可能であるかどうかを議論する必要がある。
- ・(G委員) 事業アウトカム達成に至るロードマップは明確であり、目標値と達成時期は無理の無い設定と思われる。一方、海外でもルシフェラーゼ技術開発は平行して進んでおり、様々な発光特性を有している。海外輸入品に依存している現状から脱却するには、技術的に海外を凌駕する優位性が必要となる。国際競争力を高めるためには、その課題解決にむけた戦略的な方策が必要になるであろう。
- ・(I委員) 競合する新規性の高い試験法が提出された場合、本事業のアウトカムは影響を受けるのは避けられない。国内外の動向について十分調査し、その結果を反映する視点も望まれる。
- ・(J委員) 特に指摘すべき点はないが、実際利用面での具体的指標がもう少し明確であれば達成ポイントが分かり易かったかもしれない。

2. 研究開発内容及び事業アウトプットの妥当性

人工染色体ベクターの特性を活かした発光レポーターシステムは独創的であり、シグナル強度や継代安定性など既存技術に対する優位性を担保した技術開発に成功している。また、研究開発要素も明確であり、アウトプット指標・目標値も適確に提示され、成果を国内外に論文等により多数発信している。開発されたin vitro 評価方法開発の達成度も高く、そのハイスループットスクリーニング系への展開や汎用性の取組も十分なされている。

一方、国際的試験法として通用するものでなければ、有用な試験法を開発してもその効果は限定的になるため、それを実現するための具体性が十分に理解できない。また、開発された手法と従来法との比較や再現性の確認は、データの信頼度を担保するためには必要不可欠である。

【肯定的所見】

- ・(F委員) 基盤となる技術開発および各々の研究チームの研究開発の内容は、明確な目標を持って行われており、特に人工染色体技術を用いた基盤的技術の優位性を感じる。
- ・(G委員) 人工染色体の特性を活かしたレポーターシステムは独創的であり、シグナル強度や継代安定性など既存技術に対する優位性を担保した技術開発に成功している点は、高く評価できる。肝臓・腎臓・神経毒性のそれぞれのin vitro 試験法のプロトコル作成に関しては当該目標を達成しており、またその成果を国内外に論文等により多数発信している点は優れている。
- ・(H委員) 基本的な発想は人工染色体ベクターと生物発光レポーターを利用した応用技術であり一般毒性としての肝障害、腎障害および神経毒性の評価方法を確立する内容であり優れている。また、達成目標についてはほぼ達成されており問題ない。
- ・(I委員) 多数の生命の犠牲を伴い、莫大な費用と期間を必要とする生体試験スクリーニング法としての効果的な新しい細胞毒性評価法を創造するという、さらに作出した試験法の国際化を目指す目的は明確である。
- ・(J委員) 研究開発要素が明確でアウトプット指標・目標値が適確に提示されている。肝臓・腎臓・神経毒性in vitro 評価方法開発の達成度も高く、そのハイスループットスクリーニング系への展開も十分なされている。夫々の評価系の汎用性への取り組みもなされていた。

【問題点・改善すべき点】

- ・(F委員)
 - ▶今回の研究における具体的課題である「毒性評価」に関しては、開発された手法と従来法との比較検討が行われていないため、現時点での信頼性には疑問がある。今後、比較検討する必要がある。
 - ▶肝、腎、神経系における個々の評価法の開発にて、同じ人工染色体技術をもちいているものの、アプローチがかなり異なり、それぞれのグループが独立して進めているように感じる（有機的あるいは系統的に研究がなされていない）。細胞・臓器の違いを認めながらも、同様の（共通の）アプローチで評価できる部分があるように思われる。
 - ▶現段階の技術を標準化、国際化するための蓋然性について、説明が不十分である。
- ・(G委員) プロトコル作成において、どの程度の再現性確認を行ったかがデータから判別出来なかった。プレートアッセイであれば、ウェル間、プレート間、日毎のデータ測定を同一サンプルでくり返し行い、ばらつき（CV値等）を評価することが必要である。データの信頼度を担保するた

めには必要不可欠な実験であり、現段階では第三者がプロトコルに従って同じ結果が得られるかどうか疑問が残る。また、国際的な優位性を担保するためには特許が必要となるが、特許申請1件の内容が読み取れないため、十分かどうかの判断ができなかった。

- ・(I委員) 国際的試験法として通用するものでなければ、有用な試験法を開発しても、その効果は限定的になる。これを実現するための具体性が十分理解できない。有用な方法論の確立をすることまでにほとんどの取り組みが集中しているように思われる。現場ですぐに使用することを念頭に置いているので、施設内だけでなく、施設間の再現性、および凍結細胞にして保管した場合の安定性などのデータが必要である。一部、国際性について計画もしていない。特許出願数が少し少ないような印象を受ける。
- ・(J委員) 今後の国際化への積極的な取り組みが期待される。

3. 当省(国)が実施することの必要性

本分野は国民の健康・福祉に利する基盤研究であり、民間のみでは必要にして十分な技術開発（信頼性、再現性を含め）、技術の標準化は極めて困難である。また、本分野は創造性と利益を生む必要性があるという相反する側面があり、企業、研究機関、大学など異なる性格の団体が参加し、先進的な技術を集結して確立しなくてはならないため、国が主導することが望ましい。

一方、開発された技術が参加団体とその関連に限定されてしまうことは望ましくないため、具体的にどのようにして社会に広めていくのかを明確にすべきである。

【肯定的所見】

- ・(F委員)
 - ▶本研究課題は、国が実施すべき研究として非常に高い優先順位にある。民間企業などによる研究のみでは、必要にして十分な技術開発（信頼性、再現性を含め）、技術の標準化は極めて困難である。
 - ▶一般国民の健康・福祉に利する基盤研究であり要求度も高く、極めて社会的性格の強いものである。
 - ▶研究の先進性を担保・維持するためには、国内の医、理、工、薬などの多分野の研究者と研究施設が有機的で系統的な研究をすすめることが必須で、それなくしては本研究の最終目標は達せられない。
 - ▶科学技術的価値の観点からみた卓越性、先導性は有しているが、むしろ社会的要求度の高さから国が主体的役割を果たすべきと考える。
- ・(G委員) 化学物質のリスク評価のガイドライン制定は、国家機関が実施すべき課題であり、その評価技術の確立とデータ収集は産学間の先進的な技術を集結して確立しなくてはならない。迅速かつ効率的な有害性試験法の開発は、当省が主体となって推進すべき重要課題である。
- ・(H委員) 国が実施することの意義は、日本の化学産業の競争力を強化し産業振興につながり、さらにきわめて科学的に健全（客観的に公正な）な評価システムが構築できることであり妥当なもの判断できる。
- ・(I委員) 石油精製物質に限らず、年々、膨大な新規化合物が生産されている。これに対して、国内外における動物愛護精神の高まり、また経費の面からも、従来のげっ歯類を大量に使用することは不可能である。これを克服するため、効果的な新しい細胞毒性評価法を創造するという本

プロジェクトの目的は理解しやすく、重要な国家プロジェクトである。採算性に必ずしもとらわれない創造性と利益を生む必要があるという相反する側面があるため、企業、研究所、大学など異なる性格の団体が参加することが必要であり、国家が介在することが望ましい。

- ・(J委員) 当省が実施することの必要性に関わる事項は適切に提示されている。

【問題点・改善すべき点】

- ・(I委員) 参加団体とその関連に限定されてしまう技術であることは望ましくない。評価書ではその点について必ずしも明確ではなく、具体的にどのようにして広めていくのか詳しく記述されていない。

4. 事業アウトカム達成に至るまでのロードマップの妥当性

実用化に向けたプロトコルの作成及びユーザーによる評価まで実施されたうえで、ロードマップは国際化、標準化を念頭に入れており概ね妥当である。

一方、開発した技術の国際的な競争力を担保するには、さらなる方法のバリデーションが必要であり、小動物実験による従来の毒性評価法と同等あるいはそれ以上の情報が得られるかどうかを検証することが必要である。

【肯定的所見】

- ・(F委員) 研究推進、事業アウトカム達成にむけたロードマップは、知財、論文化、国際化・標準化などを念頭に入れたものであり、概ね妥当である。
- ・(G委員) 各試験法の基盤技術をもとに、実用化に向けたプロトコル作成ならびにユーザーによる評価まで開発を進めており、当初の目標は概ね達成している。神経毒性評価系の開発については若干の遅れは否めないが、技術は確立しており安全性基準の策定にむけた準備は十分に整っている。
- ・(H委員) 研究組織、ロードマップともに妥当なものと評価する。
- ・(I委員) 知財管理、販売、技術活用などほとんどの点に配慮した十分な計画である。
- ・(J委員) 提示されているロードマップは、概ね妥当である。

【問題点・改善すべき点】

- ・(F委員)
 - ▶今後のロードマップにおいて、今回開発された手法がマウスなどを用いた従来の手法と同程度あるいはそれ以上の情報をもたらすという「検証」部分が欠けているように思われる。それぞれの臓器における毒性評価の開発は高い技術をもってなされたが、文献からのデータを基盤にした研究、あるいは細胞レベルでのデータ評価にとどまっている。小動物実験による従来の毒性評価法と同等あるいはそれ以上の情報が得られるかどうかを検証することが、今回の研究の信頼性・有用性の裏付けとなる。
 - ▶知財管理の取扱い：特許が1件のみというのは、気にかかる。
 - ▶実証や国際標準化：今回の発表では実証実験がなされていないため、評価できない。国際化に関しても、用いた細胞のdiversityあるいはfragilityなどの問題もあり、まだ評価できる段階にはないと感じる。

- ▶性能や安全性基準の策定：今後の課題である。
- ・（G委員）開発した技術の国際的な競争力を担保するには、さらなる方法のバリデーションが必要であろう。類似技術と比較の上、分析化学的視点からの優位性を明確にする必要がある。国際標準化に向けた戦略をより明確にできるとよいであろう。
- ・（I委員）国際化に向けて講じる手段がわかりやすく反映されていない。

5. 研究開発の実施・マネジメント体制等の妥当性

プロジェクトの実施体制は、明確なミッション毎に組織化されており、産学間の連携を維持しつつ有機的にプロジェクトを推進した印象を強く受ける。また、実施者はこれまでの実績を十分考慮した適正な選択である。国民との対話数も多く、資金分配及びアウトカム達成のための戦略についても問題はない。

一方、各研究チームの研究の進め方に違いが見られ、技術（アッセイ法）の共有、病態・疾患の共通性・特殊性などに対するチーム間の理解（連携）が少なかったのではないかと考えられる。

【肯定的所見】

- ・（F委員）
 - ▶研究開発に関しては、基盤となる技術に対する信頼性は高く、そのため研究開発計画通りに進んでいる。これは、研究実施者、体制などが機能していることを示している。
 - ▶事業アウトカム達成までの間の研究開発の実施・マネジメント体制は明確かつ妥当である。
- ・（G委員）プロジェクトの実施体制は、明確なミッション毎に組織化されており、産学官の連携を維持しつつ有機的にプロジェクトを推進した印象を強く受けた。
- ・（H委員）研究開発計画、管理体制ともに妥当な元と評価できる。研究開発実施者の的確性も問題ない。知的財産の取り扱いについてはもう少し明確に記載しておいたほうがベターか。
- ・（I委員）実施者はこれまでの実績を十分考慮した適正な選択である。研究開発の計画、実施体制についても問題がない。国民との対話数も多く、資金分配およびアウトカム達成のためのマネジメント体性を含む戦略についても問題ない。
- ・（J委員）提示された研究開発の実施・マネジメント体制は妥当である。

【問題点・改善すべき点】

- ・（F委員）各研究チームの研究の進め方（あるいは考え方）に違いが見られ（臓器・細胞が異なることを考慮しても）、技術（アッセイ法）の共有、病態・疾患の共通性・特殊性などに対するチーム間の理解（連携）が少なかったのではないかと考えられる。こういった観点から、研究遂行のための戦略がより検討され、今後より充実した研究体制で系統的な研究推進を期待する。
- ・（G委員）今後の国際標準化に向けた取り組み内容について、既に取得している特許を含めどのような知財戦略に基づいて、国際的な優位性を担保しようとしているか、より具体的な説明が欲しかった。
- ・（I委員）社会経済情勢等、周囲の状況変化に対する対応については資料からは読み取れない。

6. 費用対効果の妥当性

十分な国費を使用して行う事業として相応しい課題であり、現在の動物試験にかかる費用を勘案すれば、本事業のアウトプット及び期待されるアウトカムは十分に還元され得る。また、本来費用対効果は、評価試験の妥当性（精度、正確性）を含めて試算すべきであり、単純に試験コスト（工数）的評価でない要素がある。

一方、日本発の国際標準化したアッセイ技術を開発するためには、様々な分野の専門的研究者をさらに結集する必要がある。今回の研究者をコアとして研究を拡大することが、迅速かつ高水準な研究と先進性を保つために必要と考える。

【肯定的所見】

- ・（F委員）十分な国費を使用して行う事業として相応しいものであり、さらに国費を投入しても最終目標を達成すべき課題である。
- ・（G委員）現在の動物試験にかかる費用を勘案すれば、本事業のアウトプットおよび期待されるアウトカムは十分に還元され得る。
- ・（H委員）本来費用対効果は、安全性試験自体のコスト評価のみならず評価試験の妥当性（精度、正確性）を含めて試算すべきであり、単純に試験コスト（工数）的評価でない要素がある。
In vivoとin vitro試験コスト比較は、本来得られる情報と質によって評価されてもよい。
- ・（I委員）多額の資金が必要とされる動物実験を減少するためには細胞系によるin vitro実験法の精度をあげることが望まれる。したがって、目的の意義を考慮すれば必要かつ適正である。
- ・（J委員）費用対効果の評価項目・評価基準は妥当である。

【問題点・改善すべき点】

- ・（F委員）日本発の国際標準化したアッセイ技術を開発するためには、基礎開発分野のみならず、様々な分野の専門的研究者をさらに結集する必要がある。今回の研究をコアとして研究を拡大することが、迅速かつ高水準な研究と先進性を保つために必要と考える。

7. 総合評価

人工染色体及び発光レポータータンパク質は国内独自の技術であり、その融合は唯一無二の優れた特性があることを立証している点は技術的に高く評価できる。また、3次元培養細胞を用いるアッセイ系の検出は、従来のインセルアナライザーでは不可能であり、ルシフェラーゼレポーターの特性を活かした評価系として新規性が高く、新たな毒性評価法として期待される技術となると考えられる。今回、提示された評価方法・エンドポイントの妥当性に関する到達ポイントは科学的にレベルの高いものであった。また、中間評価時に達成度の点で懸念されていた事項が、最終評価時にはかなり解消されていた。

一方、現時点ではまだ克服すべき問題点が多く残されており、現在の試験法が完全な完成系となり得るかどうかを含め、同一サンプルの繰り返し測定によるデータ変動や測定系のロバストネス評価等、国際競争力を強化するための更なる基礎データの取得及び技術改善が必要となるであろう。これらの問題点の洗い出し等を再度検討の上、技術面の更なる改善を期待したい。

【肯定的所見】

- ・（F委員）本研究課題の目標は、極めて重要であり、国の予算を使用して進めるに相応しいもので

ある。研究成果が毒性評価の国際的な標準となれば、日本国民のみならず多くの人々の健康と福祉に貢献することは、明らかである。

- ・(G委員) 産官学の有機的な連携をプロジェクトリーダーが強いリーダーシップのもとで構築し、開発を推進してきた印象を強く受けた。人工染色体ならびに発光レポータータンパク質は国内独自の技術であり、その融合は唯一無二の優れた特性があることを立証している点は技術的に高く評価できる。3次元培養細胞を用いるアッセイ系の検出は、従来のインセルアナライザーでは不可能であり、ルシフェラーゼレポーターの特性を活かした評価系として新規性が高い。新たな毒性評価法として期待される技術となるであろう。
- ・(H委員) 全般的には優れた内容であり特に問題ないが、予測からあるいはVivoと外れた結果(神経毒性等)については丁寧にその原因究明をすることが今後の予測精度の向上につながる。
- ・(I委員) 国際的な流れからも非常に意義深い事業であることは明らかである。日本オリジナルの技術である人工染色体と、発光レポーター系を組み合わせた技術を、代表的な毒性試験に生かす試みは評価できる状況にある。
- ・(J委員) 中間評価時に達成度の点で懸念されていた事項が、最終評価時にはかなり解消されていた。今回、提示された評価方法・エンドポイントの妥当性に関する到達ポイントは科学的にレベルの高いものであった。
 - ▶夫々の評価方法のハイスループット性はその簡易性と高い精度を有している
 - ▶肝臓・腎臓毒性評価法は、実用化レベルに達してきている
 - ▶神経毒性評価法は、中間評価時の指摘問題点を一応クリアーしている

【問題点・改善すべき点】

- ・(F委員) 現時点では、以下のように、まだ克服すべき問題点が多く残されている。
 - ①各臓器・細胞の生物・病態学的特異性あるいは共通性を考慮したうえで、系統的なアッセイ技術の開発
 - ②国際的な汎用性を持たせるための技術開発(いつでも、どこでも、誰でもが、同水準の結果を得られる、といった点)
 - ③現状での評価法に対する有意性(情報量、時間、経済性、人材など)の検証
 - ④細胞のfragility, diversityなどを理解したうえでの、細胞によるバイオアッセイにおける国際標準化に向けた具体的なイメージ(製品化イメージ)
 - ⑤特許の取得(現時点で、特許取得1件というのを懸念する)
- ・(G委員) 毒性の安全性評価法として、開発したin vitro 試験法のバリデーションが不足していると思われる。同一サンプルの繰り返し測定によるデータ変動や、測定系のロバストネス評価等、国際競争力を強化するためには更なる基礎データの取得、ならびに(必要であれば)技術改善が必要となるであろう。現在の試験法が完全な完成系となり得るかどうかを含め、問題点の洗い出し等を再度検討の上、技術面の更なる改善を期待したい。
- ・(I委員) 目的の重大性からすれば些細かもしれないが、石油精製物質について多少なりとも言及すべきではないか。この他、試験法確立の取り組みに比較すると、アウトカムについてはやや配慮が足りないように思われる。
- ・(J委員) 評価対象となる事項に関しては、おおきな問題点・改善点はない。

8. 今後の研究開発の方向等に関する提言

最終評価時に提示された評価方法とそのエンドポイント設定はハイスループット性にも長けたものであり、かつ科学的にレベルの高いものであった。中間評価時に達成度の点で懸念されていた事項も最終評価時にはかなり解消されており、対応集中性とその努力が窺われた。また、夫々の評価方法の汎用性については、その簡易性と高い精度を有していると考えられる。

本プロジェクトの効果は国内外を問わず、大きな利益を生み出すことが期待されるわけであるので、今後も何かしらの形で継続することが望まれる。その際、最大のアウトカムが得られるよう、専門家の協力も得て、各分野とより系統的に有機的に進めるべきである。

一方、将来的な最終目標（国際標準となる毒性評価法の確立）にむけては、以下の問題点の克服に注力されることを望む。

- ①各臓器・細胞の生物・病態学的特異性あるいは共通性を考慮したうえで、系統的なアッセイ技術の開発
- ②国際的な汎用性を持たせるための技術開発（いつでも、どこでも、誰でもが、同水準の結果を得られる技術が汎用性を生み、国際性を持たせるものとする。）
- ③現状での評価法に対する有意性（情報量、時間、経済性、人材など）の検証。特に、今回の発表では、現在行われているマウス実験などとの比較検討（検証）を各グループ自身で行っていないため、評価することが出来ない。
- ④細胞のfragility, diversityなどを理解したうえでの、細胞によるバイオアッセイにおける国際標準化に向けた具体的なイメージ（製品化イメージ）
- ⑤特許の取得

また、今後の科学的なシェイプアップとそれに伴うシステム構築に期待される挑戦・展開性については、以下を考慮して推進すべきである。

- ①多様なエンドポイントをどのように集約して普遍的な評価に結び付けるか。
- ②Pheno-type 変化と Geno-type の変化（遺伝子変動：Genome と Epigenome の関連）をどのように Integrate していくか。
- ③上記の（1）、（2）と関連性して、既存および今後提示されてくる構造・毒性関連データベースやメカニズム解析ツールとのマッチングをどのようにするか。
- ④本プロジェクトで得られた知見を Systems biology/toxicology 的考究 及び AOP (Adverse Outcome Pathway) の解析の中にどのように組み込んでいく。

【各委員の提言】

- ・（F委員）本研究課題の目標は極めて重要であり、研究成果が毒性評価の国際的な標準となれば、日本国民のみならず多くの人々の健康と福祉に貢献することは、明らかである。本研究は、今後各分野とより系統的に有機的に進めるべき課題と考えている。しかしながら、最終的な目標（国際標準となる毒性評価法の確立）にむけては、まだ克服すべき問題点が多く残されている。

以下

- ①各臓器・細胞の生物・病態学的特異性あるいは共通性を考慮したうえで、系統的なアッセイ技術の開発
- ②国際的な汎用性を持たせるための技術開発（いつでも、どこでも、誰でもが、同水準の結果を

得られる技術が汎用性を生み、国際性を持たせるものとする。))

③現状での評価法に対する有意性 (情報量、時間、経済性、人材など) の検証。特に、今回の発表では、現在行われているマウス実験などとの比較検討 (検証) を各グループ自身で行っていないため、評価することが出来ない。

④細胞のfragility, diversityなどを理解したうえでの、細胞によるバイオアッセイにおける国際標準化に向けた具体的なイメージ (製品化イメージ)

⑤特許の取得

- ・ (G委員) 技術面において、肝臓・腎臓・神経それぞれの毒性試験法について、方法のバリデーションを行い、データ変動をできるだけ抑える必要がある。そのための方策をさらに検討する必要がある印象を受けた。また試験法のロバストネスを評価するために、ユーザーとなる関連機関にサンプルとプロトコルを供与し、同一サンプルについて測定を行って頂き、異なる測定環境下でどの程度のデータ変動があるかを調査することも必要であろう。
- ・ (H委員) 本評価システムは、発想、コンセプト、実施内容いずれも優れているが、今後、物質数を増加させて精度向上を目指してもらいたい。また一方で体内の化学物質の動態、変化を十分に考慮したシステム形の確立への展開を期待する。
- ・ (I委員) 今後ともげっ歯類を大量に使用することは不可能であるので、細胞系を中心としたスクリーニング法の精度をあげることは不可避的な課題である。iPS細胞を用いた治療が発達していくにせよ、薬の基本は化合物である。また、医薬品以外の一般的な化合物についても必ず毒性を確認しなければならない。したがって、本プロジェクトの効果は国内外を問わず、大きな利益を生み出すことが期待されるわけであるので、今後も何かしらの形で継続することが望まれる。その際、最大のアウトカムが得られるよう、専門家の協力も検討すべきではないか。
- ・ (J委員) 最終評価時に提示された評価方法とそのエンドポイント設定は、ハイスループット性にも長けたものであり、かつ科学的にレベルの高いものであった。中間評価時に達成度の点で懸念されていた事項が最終評価時にはかなり解消されており、対応集中性とその努力が窺われた。夫々の評価方法の汎用性については、その簡易性と高い精度を有している。国際性については、今後の展開に期待される場所である。今後の科学的なシェイプアップとそれに伴うシステム構築に期待される挑戦・展開性については、以下の点が挙げられる。
 - ①多様なエンドポイントをどのように集約して普遍的な評価に結び付けるか?
 - ②Pheno-type 変化と Geno-type の変化 (遺伝子変動: Genome と Epigenome の関連) をどのように Integrate していくか?
 - ③上記の (1)、(2) と関連性して、既存および今後提示されてくる構造・毒性関連データベースやメカニズム解析ツールとのマッチングをどのようにするか?
 - ④本プロジェクトで得られた知見を Systems biology/toxicology 的考究 および AOP (Adverse Outcome Pathway) の解析の中にどのように組み込んでいくか? : 毒作用発現機序に関する科学的メカニズム解明にどのように寄与するか?

<上記提言に係る担当課室の対処方針>

(評価検討会終了後に、提言に対する対処方針を整理し、追記する。)

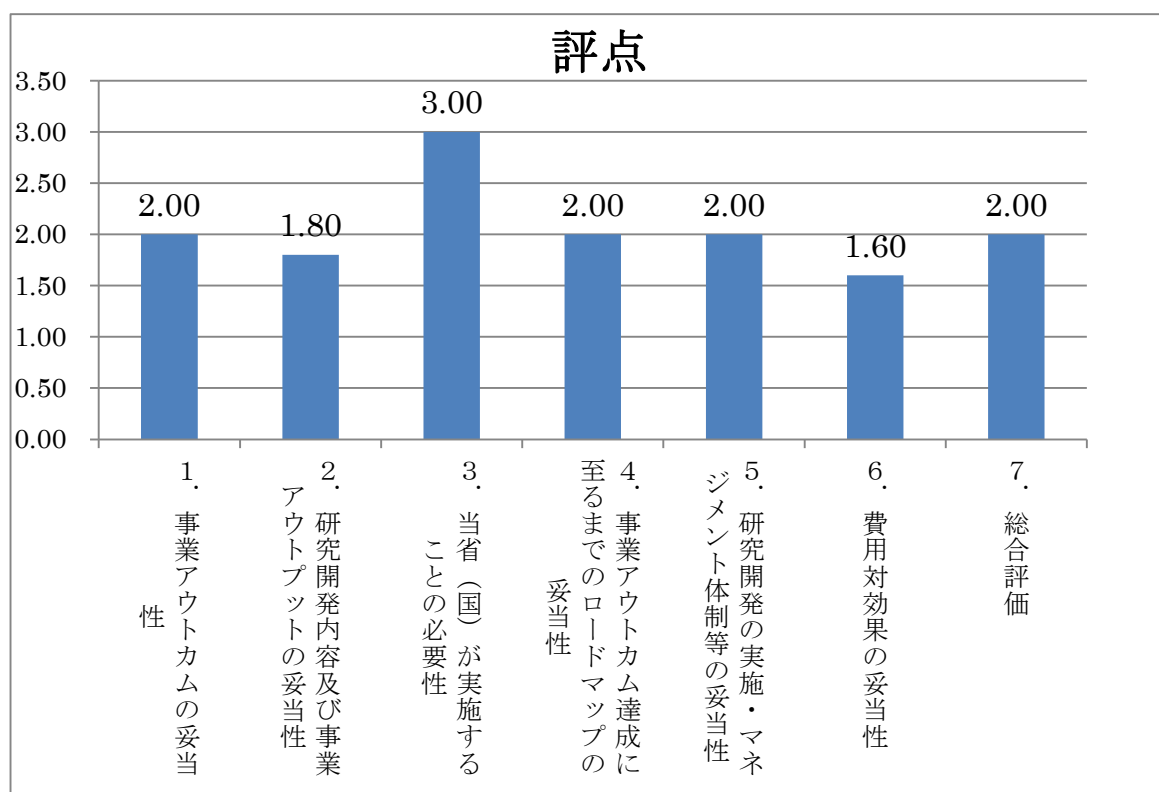
当該プロジェクトは、世界的にニーズのあるリスク管理領域として国際競争力の点・定量的な目標

値を設定し、重要課題として当課が主体となり推進した。当初設定した最終目標に対して、いずれの課題も概ね達成したが、各分野との系統的な連携や、構築した試験系の検証、国際標準化等については、フォローアップ事業等を通じて当課が引き続きフォローしていく所存である。

Ⅲ. 評点法による評価結果

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

	評点	A委員	B委員	C委員	D委員	E委員
1. 事業アウトカムの妥当性	2.00	3	1	2	2	2
2. 研究開発内容及び事業アウトプットの妥当性	1.80	2	2	2	1	2
3. 当省（国）が実施することの必要性	3.00	3	3	3	3	3
4. 事業アウトカム達成に至るまでのロードマップの妥当性	2.00	3	2	2	2	1
5. 研究開発の実施・マネジメント体制等の妥当性	2.00	2	2	2	2	2
6. 費用対効果の妥当性	1.60	3	1	1	1	2
7. 総合評価	2.00	3	2	2	1	2



【評価項目の判定基準】

評価項目 1. ～ 6.

3点：極めて妥当

2点：妥当

1点：概ね妥当

0点：妥当でない

評価項目 7. 総合評価

3点：実施された事業は、優れていた。

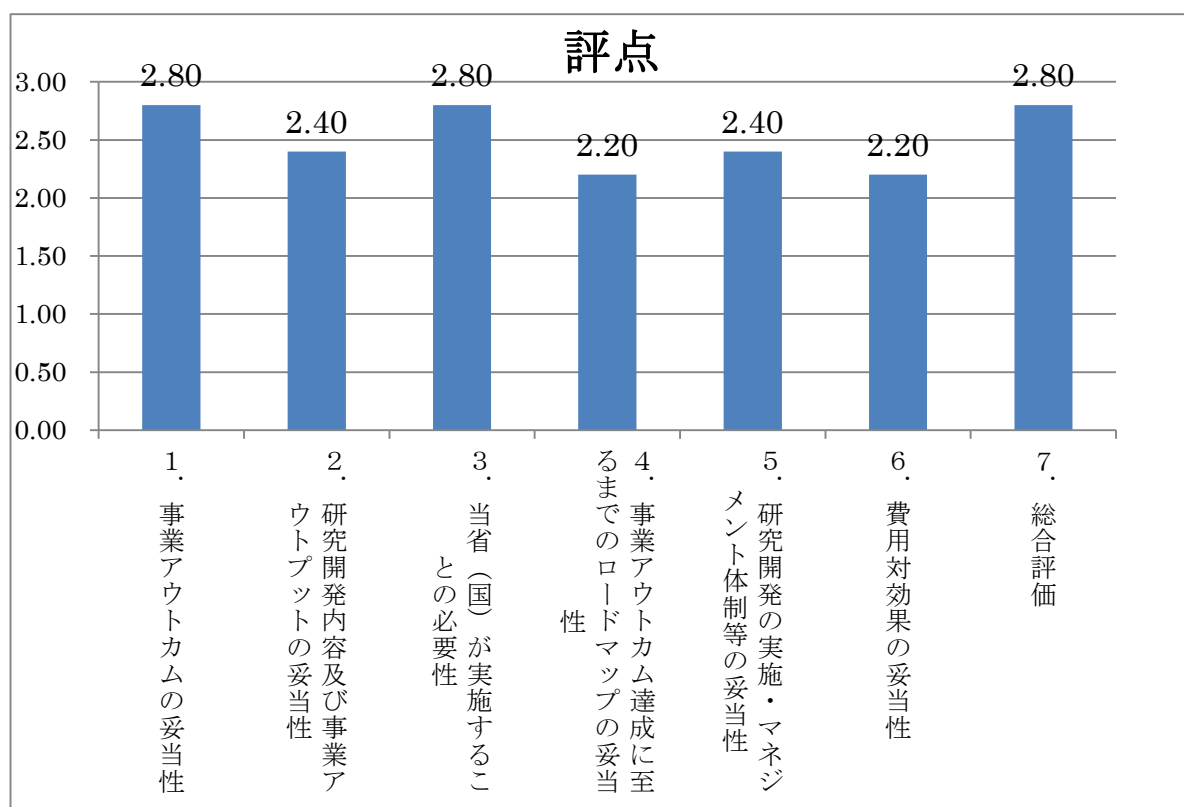
2点：実施された事業は、良かった。

1点：実施された事業は、不十分なところがあった。

0点：実施された事業は、極めて不十分なところがあった。

②. 肝臓毒性、腎臓毒性及び神経毒性 in vitro 試験法の開発

	評点	F委員	G委員	H委員	I委員	J委員
1. 事業アウトカムの妥当性	2.80	3	3	3	3	2
2. 研究開発内容及び事業アウトプットの妥当性	2.40	2	3	2	2	3
3. 当省（国）が実施することの必要性	2.80	3	3	3	3	2
4. 事業アウトカム達成に至るまでのロードマップの妥当性	2.20	2	2	2	3	2
5. 研究開発の実施・マネジメント体制等の妥当性	2.40	2	2	3	3	2
6. 費用対効果の妥当性	2.20	3	2	1	3	2
7. 総合評価	2.80	3	3	3	3	2



【評価項目の判定基準】	
評価項目 1. ～ 6.	
3点	極めて妥当
2点	妥当
1点	概ね妥当
0点	妥当でない
評価項目 7. 総合評価	
3点	実施された事業は、優れていた。
2点	実施された事業は、良かった。
1点	実施された事業は、不十分なところがあった。
0点	実施された事業は、極めて不十分なところがあった。

IV. 評価ワーキンググループの所見及び同所見を踏まえた改善点等

評価ワーキンググループの所見【終了時評価】

所見を踏まえた改善点（対処方針）等【終了時評価】

評価ワーキンググループの所見【中間評価】

本プロジェクトは、経済産業省のプロジェクトとして化学物質管理に必要な新たな有害性試験方法の標準化を目的としているが、EU等と比べて予算的に小規模のプロジェクトであり、本プロジェクトで実施する事業の範囲と経済産業省が実施する意義を明確にして着実に事業を実施すべきである。

所見を踏まえた改善点（対処方針）等【中間評価】

EUの事業（SEURAT）は、EUの化粧品産業界が参加している同分野における動物を使わない試験手法開発であり、皮膚感作性、刺激性試験など化粧品に求められる試験項目を網羅しています。それらとくらべると本プロジェクトは金額的に小さいものの、将来、化審法による新規化学物質の製造・輸入に求められる試験がより簡便・低コストで行われるよう、*in vitro*、*in vivo* の新たな有害性評価の試験方法に的を絞ってストで行われるよう、*in vitro*、*in vivo* の新たな有害性評価の試験方法に的を絞って開発を実施しています。

評価ワーキンググループの所見【事前評価】

①課題の多様性を勘案すると、バイオマーカーの開発費が分散する傾向にある。WHO等の研究においても同様のことが指摘されている。

②重要な課題であり、我が国のこれまでの「リスク評価」実績を生かして世界をリードする成果が望まれる。また、他の化学物質管理に関する事業と共にプログラムの一環として推進することが望ましい。

所見を踏まえた改善点（対処方針）等【事前評価】

①本プロジェクトでは、「課題の多様性」という観点を踏まえ、化学物質の毒性の多様なエンドポイントについて、汎用的でかつ効率的な評価手法の開発を目的としており、バイオマーカー開発の方向性の集約に貢献するものと考えている。

②発がん性、催奇形性、免疫毒性等の有害性評価手法の簡素化（*in vitro*化）は、化学物質の多様な毒性を効率的に評価可能な手法として世界に先駆けた開発であり、国際標準を目指していく。また、本プロジェクトは、他の化学物質管理に関する事業とともに化学物質のリスク評価・管理技術に係わる体系的な研究開発を実施している。