



2015

The Japanese Society for Alternatives to Animal Experiments

日本動物実験代替法学会 第28回大会・横浜

プログラム・講演要旨集

考・動物実験代替試験法の 今とこれから



会期

2015年12月10日(木)～12日(土)

会場

ワークピア横浜

大会長

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



日本動物実験代替法学会 第28回大会

プログラム・講演要旨集

Program and Abstracts
The 28th Annual Meeting of the Japanese Society for
Alternatives to Animal Experiments

大会テーマ

考・動物実験代替試験法の 今とこれから

2015年 **12月10日** (木) ~ **12日** (土)

大会長：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)

December 10 (Thu) to 12 (Sat), 2015
Chair of the Annual Meeting: Kohji Yamakage, Ph.D.
(Hatano Research Institute, Food and Drug Safety Center)

場 所

ワークピア横浜

(神奈川県横浜市中区山下町24-1)

大会事務局

〒257-8523 神奈川県秦野市落合729番地の5
一般財団法人 食品薬品安全センター 秦野研究所

E-mail: jsaae-28@fdsc.or.jp

<http://jsaae28.umin.jp/>

大会会場へのアクセス



会場：ワークピア横浜

〒231-0023 横浜市中区山下町 24 - 1
TEL 045 - 664 - 5252 FAX 045 - 664 - 6743

会場までのアクセス

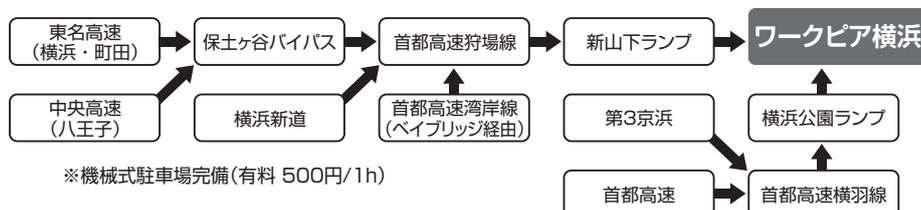
■電 車

- みなとみらい線「日本大通り駅」3番出口 徒歩5分
- JR京浜東北線「関内駅」南口 徒歩15分
- JR京浜東北線「石川町駅」北口 徒歩13分

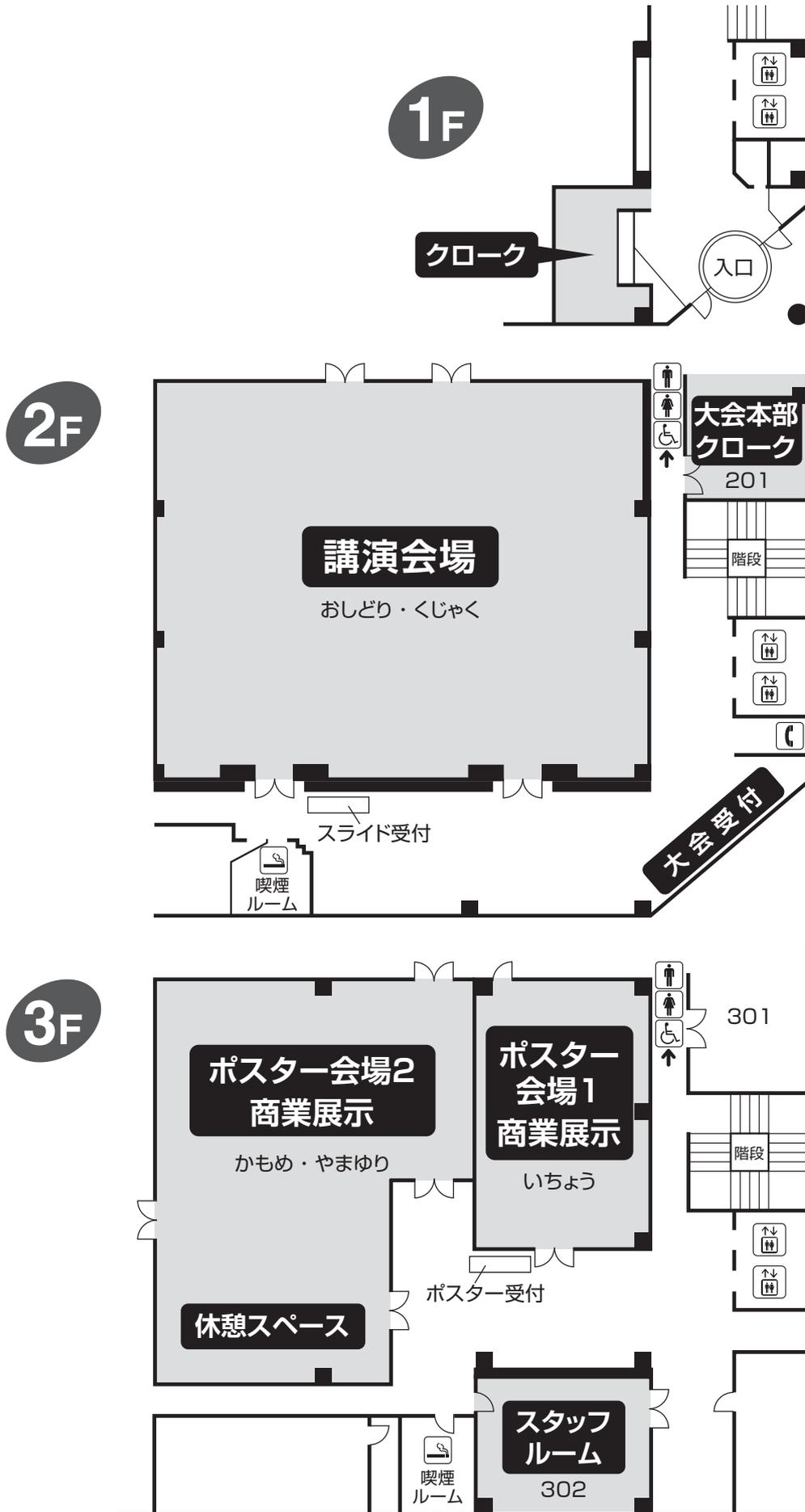
■バ ス

- 横浜市営バス「横浜駅」より「芸術劇場・NHK前」下車 乗車約20分
(東口 バスターミナル2番ポール8・58系統)
- 横浜市営バス「桜木町駅」より「芸術劇場・NHK前」下車 乗車約10分
(東口 バスターミナル2番ポール8・58系統)
- 神奈川中央交通「桜木町駅」より「芸術劇場・NHK前」下車 ... 乗車約10分
(東口 バスターミナル11系統)

■車



会場内マップ



懇親会会場へのアクセス



【所在地】

ローズホテル横浜 〒231-0023 横浜市中区山下町77

TEL : 045-681-3311 / FAX : 045-681-5082

※懇親会場は2階、ザ・グランドローズボールルームとなります。クロークは2階にあるホテルのクロークをご利用ください。

【大会会場(ワークピア横浜)からのアクセス】

徒歩3～5分

※左周りが最短ルートです。右回りですと、中華街を象徴する東門を通ることができます。

【最寄駅】

みなとみらい線 元町・中華街駅下車 徒歩1分、日本大通り駅下車 徒歩8分
当日は、ポスター発表終了から懇親会場までは徒歩での移動をお願いします。

12月10日 木		12月11日 金		12月12日 土	
講演会場	ポスター会場	講演会場	ポスター会場	講演会場	ポスター会場
2F	3F	2F	3F	2F	3F
9:00		8:30~ 受付開始		8:30~ 受付開始	
		9:00~10:25 シンポジウム 2 一般社団法人 日本化学工業協会 LRI シンポジウム	9:00 ~ 17:30 ポスター展示・企業展示	9:00~10:15 シンポジウム 5 日本発の哺乳動物 細胞を用いる 代替試験法Ⅱ 眼刺激性試験	9:00 ~ 14:40 ポスター展示・商業展示
10:00				10:20~11:50 シンポジウム 6 ES/iPS細胞 分化誘導技術の 最前線	
11:00	10:30 ~ 12:00 評議員会 会場： いちよう	10:40~11:50 シンポジウム 3 細胞アッセイ系の 生理機能向上のため の組織工学的 アプローチ	ポスター会場1...P101~P128 ポスター会場2...P129~P157		
12:00		12:00~13:00 ランチョンセミナー 日本医化器械製作所 主催		12:00~13:15 総会	
13:00		13:10~14:25 シンポジウム 4 資生堂シンポジウム 動物実験を用いない 化粧品全身毒性評価 に向けた資生堂の アプローチ		13:20~13:55 教育講演	
		13:00~ 大会長挨拶		13:55~14:40 特別講演	
14:00		13:10~14:50 シンポジウム 1 日本発の哺乳動物 細胞を用いる 代替試験法Ⅰ 皮膚感作性試験	14:30~15:30 ポスター発表 (奇数番号)		
15:00		15:00~16:00 マンダム 動物実験代替法 国際研究助成研究 報告会		15:00~17:50 シンポジウム 7 経済産業省 プロジェクト ARCH-Tox 成果報告会	14:40 ~ 撤去
16:00			16:00~17:00 ポスター発表 (偶数番号)		
17:00	17:00~ ポスター展示 開始	16:10~18:30 動物実験代替法学会 国際交流委員会主催 シンポジウム			
18:00		18:00~20:00 懇親会 会場:ローズホテル横浜		17:50~ 閉会	

プログラム／Program

12月10日(木)

13:00～13:10 大会長挨拶 / Greetings (Chair of the Annual Meeting)

13:10～14:50 シンポジウム 1/ Symposium 1

座長：足利 太可雄 (資生堂リサーチセンター)
Chair: Takao Ashikaga (Shiseido Research Center)

[皮膚感作性試験] 日本発の哺乳動物細胞を用いる代替試験法 I

[Skin Sensitization Tests] Alternative test methods (I) using mammalian cells developed in Japan

S1-1 皮膚感作性および免疫毒性の adverse outcome pathway (AOP)

13:10～ OECD adverse outcome pathway (AOP) for skin sensitization and development of AOP for immunotoxicity of chemicals

○相場 節也

東北大学 大学院 医学系研究科 皮膚科学講座

○Setsuya Aiba

Department of Dermatology, Tohoku University Graduate School of Medicine

S1-2 IL-8 Luc assay バリデーション試験

13:35～ Validation tests of IL-8 Luc assay

○木村 裕

東北大学 大学院 医学系研究科 皮膚科学講座

○Yutaka Kimura

Department of Dermatology, Tohoku University Graduate School of Medicine

S1-3 h-CLAT バリデーション試験とガイドライン化

14:00～ Validation study and the draft guideline of h-CLAT

○足利 太可雄

資生堂リサーチセンター

○Takao Ashikaga

Shiseido Research Center

S1-4 難水溶性原料を評価可能な新規 *in vitro* 皮膚感作性試験法の開発 ～3次元ヒト培養皮膚モデルを用いた試験法 (EpiSensA) の有用性～

14:25～ Development of a novel skin sensitization test applicable to lipophilic chemicals
–The utility of the EpiSensA with a three-dimensional human skin model–

○齋藤 和智

花王株式会社 安全性科学研究所

○Kazutoshi Saito

Kao Corporation, R & D Safety Science Research

特別講演

代替試験法の問題点と今後の方向性 — 毒性学的観点からの考察 —

菅野 純

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 毒性部

12月12日(土) 13:55～14:40

座長：小野 敦 (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)

代替試験法の問題点と今後の方向性 — 毒性学的観点からの考察 —

Current Problems and Perspectives of the Alternate Test Methods from the Viewpoint of *in vivo* Toxicology

○菅野 純

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 毒性部

○Jun Kanno

Division of Cellular & Molecular Toxicology, Biological Safety Research Center, National Institute of Health Sciences

有害性同定の方策には種々あるが、基盤となるのが、ある物質を摂取した際の症状の分析による毒性の把握である。人が対象の場合、わかりやすいのが、病院の緊急外来に於ける何らかの物質による中毒患者の診断である。臨床データに加え、死亡した場合に剖検が行われた際の精緻なデータが蓄積され、教科書が編纂され、疫学調査が行われ、原因物質の毒性機序の推定・解明、診断法の確立、用量作用関係の推定、等が行われる。この手順を実験動物に持ち込んだのが、従来からの毒性試験である。人に於ける診断学を実験動物に展開し毒性を精度よく推定するものである。人と実験動物の種差の問題は、背景データの蓄積により対処してきている。病院での診断手順を考えると、陰性対照も陽性対照も置かず、患者 $n=1$ に対して、医者の中のデータベース、即ち $n=\infty$ の患者の所見に基づく病態発現機構(推定を含む)の体系的知識と診断技

術知識等に本人の経験を加えたもの、を対比する事により実施されている。

毒性試験でも個別診断が基礎になる。異なる点の一つ、対象群・投与群ごとに何匹の動物を配置するかは常に複雑な問題を孕んでおり、現在に於いても論議となる場合がある。そもそも統計学が必要なのか、或いはどのような手法を用いるかも関係する。

さて、代替法は、毒性試験の動物を何らかの「別のもの」に置き換えることであろう。動物を一匹一匹診断して得ている情報の内容を想起して、培養細胞等にそれを担わせる際の問題点を整理する必要がある。試験法としてバリデーションに耐える必要もある。ここでは、OECD テストガイドライン作成の経験などを含め、このような視点からの代替試験法の問題点と今後の方向性について考察する材料を提供できれば幸甚である。

Hazard identification is usually based on the toxicological findings of an organism dosed with the test substance. In case of humans, easiest to explain is the process of diagnosis of intoxicated person brought into the emergency outpatient by an ambulance. Clinical data and, from mortal cases, autopsy data are compiled to establish text books and epidemiology to estimate and identify the mechanisms of toxicity, and to estimate the dose-response characteristics of a causative agent.

All of those diagnostic techniques are incorporated to the animal toxicity testing for more precise and analytical assessment of the toxicity of a substance. The problems of species differences are traditionally dealt with the accumulation of historical data. The diagnostic process taken at the hospital is based on a comparison of a patient ($n=1$) with a huge database generated from the experiences on infinite numbers of patients in the past ($n=\infty$) with additional personal experience of the doctor(s) -in-charge. There is no negative control nor

positive control in the clinic.

Basically, in toxicology animal studies, diagnosis of each animal is the starting point. One large difference and often a source of complicated discussion is the number of animals per treatment group; it relates to the issue of "statistics", whether it is needed or not, or what method should be used.

The alternative methods are to replace such experimental animals with other non-animal system. In such process, the developers might imagine the information generated by the diagnosis of each experimental animals, and clarify the limitations and advancements of the new system. This process seems to be essential for the success of validation of the system. The experiences related to the development of OECD test guideline might be useful for the discussion on the current issues and future perspectives of the development of the alternative methods.

教育講演

動物福祉における国際動向

黒澤 努

鹿児島大学

12月12日(土) 13:20～13:55

座長：金澤 由基子(一般財団法人食品薬品安全センター 秦野研究所)

動物福祉における国際動向

International Trend in Animal Welfare

○黒澤 努
鹿児島大学

○Tsutomu Miki Kurosawa
Kagoshima University

動物愛護の精神は多くの先進国で尊重されてきたが、発展途上国でも法律を策定し始めた。我国の法律は動物実験反対運動家が動物愛護運動だと称して運動を展開したことから、実験動物福祉に関する改善を行っておらず国際的な水準から乖離している。

欧米先進国を中心に各国の実験動物福祉法整備がなされ、それと並行するように国際標準、規程、指針が動物福祉を重視するように改訂された。世界動物保健機関(OIE)の動物福祉綱領、ISO国際標準、また科学界ではCIOMS(世界医科学協会)が動物実験指針を改訂した。さらにOECDは生物学的試験法の指針を改定し、動物試験法の置換方法を認めてきている。また欧州議会は2010年に実験動物保護法を策定したが、これは動物実験の規制を伴う極めて厳格なものである。隣国の韓国も実験動物保護法を施行し、実務的に運用されている。米国ではILARの指針が2011年に改訂され、規定細目が大幅に増加した。

そこで、我国でも3Rsの原則配慮、努力義務ではなく、これなくしては動物実験はできないほどの規定とすべきである。この中でもRefinement(苦痛の軽減)を細目に渡って規定すべきで、獣医学的ケアを充実させ、苦痛を軽減することを明確にすべきである。我国の実験動物福祉充実、医薬品、系商品開発だけでなく、我が国政府が推進する医療機器、再生医療製品等の開発、輸出にISO国際標準の遵守として利益をもたらし、多くの先進的企業、研究機関が目指す、AAALACの認証へとつながってゆくのである。我が国の国際的な発展のために、科学界、行政府、また立法府も国際的な実験動物福祉の流れを十分に理解し、わが国の政策さらには法制を実験動物福祉充実に向け大きく舵を切らねばならない。

Japanese regulation in animal welfare is losing its conformity with international standard. Advanced countries prepared their stringent regulation to protect laboratory animals. This trend reflect to the international standard such as OIE animal Welfare Code, ISO Animal Welfare Requirement and CIOMS Guiding Principle. OECD revised many Testing Guides to replace animal testing to alternatives. EU parliament amended laboratory animal protection directives and US revised ILAR Guide. We Japanese should revise our regulation in laboratory animal welfare accord with the international standards and guides. In particular, veterinary care as Refinement should be well defined to minimize pain and distress. The improvement of laboratory animal welfare enhances international recognition of our effort in animal welfare and then advances medical device and regenerated medical product development through ISO standard and AAALAC accreditation in Japan. Academia, regulators

and legislative bodies should understand the international trend in laboratory animal welfare and turn the rudder to prepare more stringent regulation.

ランチオンセミナー

日本医化器械製作所主催

定量的3次元培養コロニーアッセイを 用いた抗がん剤感受性

古川 龍彦

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 分子腫瘍学

12月11日(金) 12:00～13:00

定量的3次元培養コロニーアッセイを用いた抗がん剤感受性

○古川 龍彦

鹿児島大学大学院医歯学総合研究科 分子腫瘍学 教授

コロニー形成アッセイは古くから「がん化」の指標として知られてきました。しかし、多くの場合は他の実験への付加的な扱いにとどまってきました。

これまでコロニー形成アッセイに定量性を持たせるにはコロニーの数を数えることが中心で、多検体を処理する場合には画像処理を用いる方法等が行われてきました。画像を処理する場合は厳密には立体性の問題やコロニーの大小の評価に問題が起こってきます。

一方、3次元培養については現在ではいくつもの培養環境が提供されるようになりましたが、ほとんどは

「気楽に試してみる」ことができる価格ではないのが残念です。

今回の、提供する軟寒天コロニーアッセイのキットは条件設定された材料がそろっており、手元に血清とプレートリーダーがあれば失敗なくアッセイができるものとなっています。

本アッセイキットの原型となった初期のデータなどを示して、その有用性について示すとともに、実験例をご紹介します。

シンポジウム1

[皮膚感作性試験]

日本発の哺乳動物細胞を用いる 代替試験法 I

12月10日(木) 13:10～14:50

座長：足利 太可雄(資生堂リサーチセンター)

皮膚感作性および免疫毒性の adverse outcome pathway (AOP)

OECD adverse outcome pathway (AOP) for skin sensitization and development of AOP for immunotoxicity of chemicals

○相場 節也

東北大学 大学院 医学系研究科 皮膚科学講座

○Setsuya Aiba

Department of Dermatology, Tohoku University Graduate School of Medicine

環境中に存在する何万という化学物質のなかには、免疫系を標的として健康被害を及ぼすものが多数存在する。したがって、免疫毒性は消費者、生産者のもとより公衆衛生行政にとっても重要な課題となっている。現在、免疫毒性評価は動物実験を用いて行われているが、数万ともいわれる化学物質を網羅的に評価、管理するには動物を用いない評価手法の開発が喫緊の課題である。そのためには免疫毒性 AOP の作成が必須である。今年、皮膚感作性試験においては、direct peptide reactive assay (DPRA) と KeratinoSens が相次いで OECD のテストガイドラインに承認された。それに対し免疫毒性試験法に関しては、感作性試験を除くとテストガイドラインに認められているものは存在しない。その理由の一つとして、免疫毒性試験法には感作性試験法のように確立した AOP が存在しないことが挙げられる。

AOP とは化学物質のばく露から生体に毒性があら

われるまでの一連の合理的繋がりであることを意味し、具体的に接触皮膚炎(皮膚感作)の AOP では、化学物質の特性(親電子性物質)から始まり、経皮吸収、molecular initiating events と呼ばれる細胞内での化学物質と成体分子との反応(p38 MAPK, NF- κ B 活性化)、それに引き続く key events と呼ばれる表皮細胞、樹状細胞(DC)など細胞レベルの反応(樹状細胞の活性化)、それらの細胞反応が複合した皮膚やリンパ節など臓器レベルでの反応、そして adverse outcome である接触皮膚炎という個体レベルでの反応へといたる一連の反応が含まれる。そこでこのシンポジウムでは、すでに OECD から公表されている皮膚感作性の AOP に関して概説し、免疫毒性の AOP 開発の課題について検討する。

Immune system consists of a variety of cell types, their interactions via direct cell-cell contact or soluble factors such as cytokines or chemokines, and their unique effector functions. There are several thousands papers reporting immunotoxic effects of chemicals. Some of them focused on molecular events, while others examined their effects on organs or organisms. To organize these puzzle pieces, it is required to develop the AOP of immunotoxicity. AOP is a conceptual construct that portrays existing knowledge concerning the linkage between a direct molecular initiating event and an adverse outcome at a biological level of organization relevant to risk assessment. In 2012, the Organization for Economic Co-operation and Development (OECD) published the adverse outcome pathway (AOP) for skin sensitization (OECD, 2012) in which the key steps in the sensitization process are defined, i.e., protein-binding/haptenization, dendritic cell or keratinocyte activation, protection of

keratinocytes, antigen presentation and T cell activation, skin inflammation. Based on this AOP, direct peptide reactive assay (DPRA) and KeratinoSens have been accepted as test guidelines by OECD. In contrast, there is no established AOP for immunotoxicity other than skin sensitization. The lack of AOP for immunotoxicity results in a delay in development of screening methods to detect immunotoxicity of chemicals. In this talk, I am going to discuss about AOP in general, the OECD AOP for skin sensitization, and putative AOP for immunotoxicity.

シンポジウム2

〔一般社団法人 日本化学工業協会〕
LRI シンポジウム

12月11日(金) 9:00～10:25

座長：庄野 文章(日本化学工業協会 常務理事)
山下 邦彦(株式会社ダイセル コーポレート研究センター)

化学物質のがん幹細胞誘導性評価において iPS 細胞を用いる技術の開発

Assessing the risk of chemical compounds mediating CSC generation employing an iPS model

笠井 智成、佐々田 沙紀、星川 健太、松本 拓馬、増田 潤子、Anna Sanchez Calle、Arun Vaidyanath、
工藤 孝幸、○妹尾 昌治
岡山大学 大学院自然科学研究科

Tomonari Kasai, Saki Sasada, Kenta Hoshikawa, Takuma Matsumoto, Junko Masuda, Anna Sanchez Calle,
Arun Vaidyanath, Takayuki Kudoh, ○Masaharu Seno
Laboratory of Nano-Biotechnology, Department of Medical Bioengineering, Graduate School of Natural Science and Technology,
Okayama University

化学物質の発がん性リスク評価は、変異原性試験や反復投与毒性試験、統計学的な評価などによって行われてきたが、自然発生的ながんを誘導するリスクを評価できる方法は無いと言える。がん及びがん組織は特定の遺伝子変異だけによる均一な細胞の集合体ではなく、不均一な細胞の集団であり、「がん誘導性の微小環境」によって「がん幹細胞」が生じ得ることが明らかとなってきた。

がん幹細胞は際限なく増殖を繰り返し、分化を継続してがん細胞を生み出す。この増殖分化を促進するシグナルを提供するのが微小環境(ニッチ)である。この分化過程は詳細には解明されていないが、私たちはiPS細胞を用いて、がん由来細胞株の培養液にがん幹細胞を誘導する“ニッチ”が存在することを示してきた。

そこで、本研究ではマウス iPS (miPS) 細胞を用いることで、がん誘導性のニッチに作用して、変異原性

の有無に関わらず、正常な未分化細胞をがん幹細胞へ誘導する化学物質を *in vitro* で短期間に評価する手法の開発を目的とする。

実験には Nanog 遺伝子のプロモーターの下流に GFP 遺伝子が組み込まれているマウス iPS 細胞 (miPSC) を用い、未分化な状態のがん幹細胞が誘導されると判定できる系を現在試みている。一定時間で GFP の発現が一過的に抑制される培地 (がん細胞株の培養上清と miPSC 用培地を混合した培地) を用い、96-well プレートに播種した miPSC へ、75 種類の被検物質を添加して、GFP 由来蛍光の観察を行ったところ、10 種類の被検物質が iPSC の GFP 陽性を維持し、がん幹細胞を誘導すると考えられた。現在、FACS による解析を行うとともに、簡便な GFP 陽性判定法について検討を行っている。

Chemical compounds mediated carcinogenesis had been extensively studied by various assays like mutagenicity test, toxicity studies, and by statistical analysis. Here we propose the necessity to assess the inducibility of cancer stem cells by chemical compounds. The cancer stem cells are considered to be significantly responsible for growth, metastasis, invasion and recurrence of all cancer. Cancer stem cells are typically characterized by continuous proliferation, self-renewal and differentiation potential, while stem cells are considered to differentiate into tissue specific phenotype of mature cells under the influence of microenvironment. Cancer stem cells can be also treated as stem cells under the influence of microenvironment, 'cancerous niche', which induces malignant tumors. The mechanism by which the differentiation into the cancer stem cells are not yet clear. On the other hand, we established cancer stem cells derived from miPS cells using conditioned medium collected from cancer cells. In this study, we aim to develop a novel method to evaluate the inducibility of cancer stem cells from iPS cells by chemical compounds *in vitro* within short period.

Nanog miPS cells were provided by RIKEN, under the contract with Kyoto University. The miPS cells contains GFP gene cloned under the control of Nanog promoter and GFP expression is stable in undifferentiated state. The miPS cells were suspended in the conditioned medium, seeded at a density of 1000 cells/well in 96-well plates, and incubated for 24 hrs. The medium was replenished with chemical compounds containing media to be tested. The fluorescence intensity of GFP and colony formation was observed daily for 8 days. We selected 10 compounds as prospective candidates for enhancing the conversion of miPS to CSC from the 75 tested compounds. Moreover, we are now trying to study the distribution of the GFP positive cells that were exposed the test compounds with FACS analysis, and to develop an easy-to-use evaluation methods for assessing the risks of chemical compounds. Our study will lead to the development of a screening method to evaluate the risks of chemical compounds avoiding dependence on animal experiments.

シンポジウム3

〔細胞アッセイ系の生理機能向上のための
組織工学的アプローチ〕

12月11日(金) 10:40～11:50

座長：酒井 康行（東京大学大学院工学系研究科 化学システム工学専攻）

スキャフールドフリーバイオ3Dプリンタを用いた器官・臓器作成の試み Development of Scaffold-free 3D Tissue & Organ Fabrication by Bio-3D Printer

○中山 功一

佐賀大学 医学部 臓器再生医工学講座

○Koichi Nakayama

Department of Regenerative Medicine and Biomedical Engineering, Faculty of Medicine, Saga University

我々は接着系細胞が基本的に備えている細胞凝集現象を応用して、細胞だけで立体的な臓器・器官を作成する研究を続けている。さらに、三次元データと細胞をセットすると自動的に三次元データと同じ形状をした細胞だけで立体的な構造体を出力するバイオ3Dプリンタの開発に成功した。現在様々な細胞を用いた立体構造体の作成・評価を進めているが、このバイオ3Dプリンタを用いることにより、任意のXYZの位置に様々な細胞を配置でき、かつ生存率向上のカギと思われる微細流路を内部に設置したデザインを持った細胞構造体が作成可能となった。

ほとんどすべての接着系の細胞では、懸濁液に単離し細胞凝集塊を形成させることで、細胞の代謝活性と生存率の向上、特に細胞外マトリックス(ECM)の産生促進が得られる。そのため、この細胞凝集塊を積み上げるという非常に単純な方法であるが得られた構造体は非常にユニークな挙動を示している。たとえば、

単純に複数種類の細胞懸濁液を混和させた細胞凝集塊を単純にならべただけの構造体を数日間培養すると、中でそれぞれの種類の細胞が一定の規則性をもって構造体内部を移動し、場合によっては正常組織に酷似した微細な細胞配列が観察されている。

本シンポジウムでは、我々が開発したバイオ3Dプリンタの現状と課題を中心に、現在開発がすすんでいる各疾患分野への応用の可能性を議論したい。

Inspired from bone fracture treatments in orthopedic surgery, we have established a simple method to fabricate 3D scaffold-free cell construct. This method use spheroids and temporal fixator which enable placement of various types of three-dimensional cells into desired xyz positions without need of hydrogels or biochemical reactive materials. We also developed a robotic system for scaffold-free cell construction, named "Bio 3D Printer".

With this system, we already successfully fabricated living cell only construct such as cartilage, liver, cardio myocyte, blood vessel, and so on.

Although we just three-dimensionally placed multicellular spheroid roughly to fabricate pre-designed shape, the cells in the construct immediately moved to re-organize, as normal its original histological alignment. Some projects are now engaging in vivo study, like "Bio-3D printed blood vessel" shows good animal experimental

results in mini-pig A-V shunt model.

Near future, with combination of the robotic technology and the bio technology, we may be able to build living organs for autologous transplantation. And this multi-cell construct may be useful research tools for drug development.

シンポジウム4

[資生堂シンポジウム]

動物実験を用いない化粧品の全身毒性評価に 向けた資生堂のアプローチ

12月11日(金) 13:10～14:25

座長：足利 太可雄(資生堂リサーチセンター)

経済産業省プロジェクト「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：ARCH-Tox」の計画概要

Outline of a plan for Japanese Project “ARCH-Tox” for the Future Chemicals Management Policy: Research and Development of *in vitro* and *in vivo* Assays for Internationally Leading Hazard Assessment and Test Methods

○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

○Hajime Kojima

Div. of Risk Assessment, Biological Safety Research Center (BSRC), National Institute of Health Sciences (NIHS), Tokyo, Japan

化学物質の有害性を含む評価項目(エンドポイント：発がん性、一般毒性、神経毒性等)や評価基準の統一化に向けた国連勧告(Globally Harmonized System of Classification and Labeling of Chemicals, GHS)に関し各国における規制への導入が近年急速に進みつつある。このように、多様なエンドポイントに対応した有害性評価を実施するニーズが急速に高まっている。しかし、これらの有害性評価項目に関して信頼性が高く、かつ、効率的な評価技術は十分に確立されていない部分も多く、また一般的にヒト健康影響に関する有害性評価項目の多くには動物への反復投与試験等で数ヶ月から数年の期間を要するため、新たな規制導入による評価実施ニーズに答えられていない状況である。

このため、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進めることは、国内の化学物質管理の円滑な実施に資するとともに、国際的なニーズにも対応するものであり、緊急性かつ必要性

が高いものである。

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、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た。

具体的には、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や、複数の *in vitro* 試験法の開発及び迅速かつ効率的に実施できる有害性評価システム等を構築することを目標とした。

本事業の研究開発目標を達成するため、以下の研究開発項目について別紙の研究開発計画に基づき実施した。

- 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
- ② 肝臓毒性、腎臓毒性及び神経毒性 *in vitro* 試験法の開発

In 2011, Japan' Ministry of Economy, Trade and Industry (METI) launched a new 5 years research project, entitled as “ARCH-Tox”, with the goal of promoting the 3Rs in 28-day repeated dose oral toxicity studies, which are used to screen for compliance with Japan's Chemical Substances Control Law. This project includes the following two sub-projects.

1. Tox-Omics Project: Development of methods to detect multiple-toxic effects using gene expression analysis
Tox-Omics project will attempt to analyze changes in gene expression in animals tested in 28-day repeated dose studies. This result contributes to establish methods for prediction or detection of carcinogenicity, neurotoxicity, or other effects of chemical substances in major organs.

2. Tox-In vitro Project: Development of *in vitro* assays to detect toxicities, including target organ toxicity and metabolic function

This sub-project will attempt to establish *in vitro* test methods simulated *in vivo* toxic effects for the speedy and efficient assessment of hepatotoxicity, nephrotoxicity, and other endpoints in repeated dose studies.

We believe that the successful completion of these projects will help further worldwide application of the 3Rs to safety evaluation of chemicals in systemic toxicity testing.

総務委員会主催

マンダム
動物実験代替法
国際研究助成研究報告会

12月10日(木) 15:00～16:00

座長：木村 聡一郎（城西大学薬学部、日本動物実験代替法学会総務委員）

マンダム動物実験代替法国際研究助成金公募について

○井上 恭仁雄

株式会社 マンダム 製品保証部 部長

近年世界各国で動物愛護の気運が高まってきている中、2013年3月にEUにおいてマーケティング・バンが実施され、化粧品に関しては全ての動物実験が禁止になりました。このEUの動向に沿うように、日本でも3Rs(Replacement:動物実験の置換、Reduction:動物使用数の削減、Refinement:実験時の動物への苦痛軽減)の概念に則って、動物愛護の観点から動物実験の見直しが社会的に重要視されてきており、動物実験代替法の開発が活発になってきました。

マンダムでは、化粧品等の開発においては代替法の活用やヒトを用いた評価により安全性の確認を行っておりますが、さらなる安全性の確認のためにはより進んだ動物実験代替法の開発が必要であり、現在3Rsの中でも「Replacement」に着目した代替法の開発に取り組んでいます。

さらに動物実験代替法分野の研究の活性化と社会貢献の一助を目指して、代替法研究を広く積極的に推進するために、「マンダム動物実験代替法国際研究助成

金公募」を2007年から開始しており、世界中から動物実験代替法に関する研究テーマを募っています。

これまでに実施した研究助成金は、日本以外からの応募も含め、8年間で計19件になります(内、2件は本年度実施中)。研究助成テーマについては、日本動物実験代替法学会大会の場で報告が行われる予定となっており、本大会では第7回(2014年度)の研究助成テーマについての結果報告と、第8回(2015年度)の研究テーマについての中間報告をそれぞれの先生方からご発表いただきます。

最後になりましたが、この「動物実験代替法マンダム国際研究助成金公募」を行うにあたって、多大なるご協力を戴いた日本動物実験代替法学会会長の小島先生ならびに大会長の山影先生をはじめ、各委員の先生方、スタッフの皆様方には、心から感謝いたしますとともに、今後の動物実験代替法分野の発展にわずかでも貢献できることを願い、今後も出来る限りの協力を続けていきたいと考えております。

講演者一覽 索引

発表演者：太字



日本動物実験代替法学会第28回大会事務局

一般財団法人食品薬品安全センター 秦野研究所

事務局長：山崎晶次郎

〒257-8523 神奈川県秦野市落合729番地の5

TEL: 0463-82-4751

FAX: 0463-82-9627

E-mail: jsaae-28@fdsc.or.jp