

## ILSI Japan シンポジウム

食品領域の動物実験代替-現状と動向、未来に向けた取り組み-

### プログラム・講演要旨集

日時：2023年2月3日（金）13:00～17:00

（12:30より本シンポジウム接続先のURLから入室できます）

開催方法：Zoom ウェビナー

主催：特定非営利活動法人 国際生命科学研究機構（ILSI Japan）

後援：内閣府 食品安全委員会、（公社）日本農芸化学会

協賛：日本食品免疫学会、日本機能性食品医用学会

（一社）日本動物実験代替法学会、日本動物細胞工学会

（一社）日本薬物動態学会、（公社）日本栄養・食糧学会

（一社）日本組織培養学会、（一社）日本毒性病理学会



## 概要・目的：

特定非営利活動法人 国際生命科学研究機構（International Life Sciences Institute Japan; ILSI Japan）は、2018年に「食品領域の動物実験代替推進プロジェクト（AATプロジェクト）」を立ち上げ、動物に依存しない、ヒトへの予測性のより高い評価アプローチを確立し、食品の安全性及び機能性評価の精緻化・効率化を進展させることを目的とし活動しています。これらの活動は栄養や食品安全にかかわる科学的課題の解決につながり、ひいては人の健康増進に寄与すると考えております。

この度、ILSI Japan AATプロジェクトは、食品領域における動物実験代替の現状認識と将来の研究の方向性についての情報共有、並びに動物を使用しない評価技術の必要性に対する意識向上を目的として、シンポジウムを開催いたします。当該シンポジウムでは、食品領域での動物実験代替の国際的な現状と動向について、2021年10月にILSI Europeと共催で開催した「動物実験代替推進に関わる国際ワークショップ」にて報告された内容を含めた情報共有を予定しております。加えて、本邦での安全性及び機能性評価の代替技術に関する最新の研究動向についてご講演をいただくと共に、ILSI Japan AATプロジェクトの安全性評価分野での研究内容について紹介させていただく予定です。本シンポジウムは食品領域での動物実験代替の現状の動向と未来に向けた取り組みについて概観し、議論する機会となるものと考えております。

2023年1月

特定非営利活動法人 国際生命科学研究機構

食品領域の動物実験代替推進プロジェクト（AATプロジェクト）

## プログラム :

13:00~13:05 **開会の挨拶** 伊藤 勇一 (ILSI Japan)

13:05~14:15 **Session 1 : 食品領域における動物実験代替の現状と動向(ILSI国際ワークショップの話題を中心に)** ◆座長 : 伊藤 勇一 (ILSI Japan)

ILSI Japan食品領域の動物実験代替推進プロジェクト(AATプロジェクト) : 活動紹介 (ILSI Japan)

食品行政・規制における動物実験代替の現状 (ILSI Japan)

食品領域における動物実験代替推進に向けて~国際ワークショップからの提言~ (ILSI Japan)

14:15~14:25 **休憩**

14:25~16:25 **Session 2 : 動物実験代替の技術及び研究!** ◆座長 : 中江 大 (帝京平成大学)

運動できる“培養”筋細胞系をもちいた基盤研究と新展開 神崎 展 (東北大学)

ヒトIPS細胞由来腸管細胞と生体模倣システムの開発 松永 民秀 (名古屋市立大学)

インビトロおよびインシリコ手法による化学物質の安全性評価 : 課題と展望 吉成 浩一 (静岡県立大学)

食品領域における動物実験代替推進に向けたリスク評価戦略構築の取り組み (ILSI Japan)

16:25~16:35 **休憩**

16:35~17:00 **Session 3 : まとめと今後の展望** ◆座長 : 伊藤 勇一 (ILSI Japan)

【コメンテーター】

細山 浩 (日本抗加齢協会 事務局長 (株式会社エム・イチ・ビー))

大政 健史 (日本動物細胞工学会 会長 (大阪大学))

諫田 泰成 (日本動物実験代替法学会 理事 (学術担当) (国立医薬品食品衛生研究所))

17:00 **閉会** (ILSI Japan)



Session 1 : 食品領域における動物実験代替の現状と動向  
(ILSI 国際ワークショップの話題を中心に)

ILSI Japan 伊藤勇一

ILSI Japan 田口智康

ILSI Japan 船木理沙

ILSI Japan 食品領域の動物実験代替推進プロジェクト (Alternative Animal Testing Promotion Project in Food Sector; AAT Project)は、食品関連企業が参画してアカデミアと連携しながら、「代替加速のための研究推進」、「最新技術の情報収集」および「コンセンサス形成のための情報発信」を柱とし活動している。研究テーマとして、既存の毒性試験情報を有効に活用した毒性予測のための食品成分毒性データベースの構築、食品の体内曝露予測技術の構築に取り組むとともに、動物に依存しない安全性評価戦略の策定とケースレポート作成の取り組みを開始した。情報収集・発信の活動の一環として、2021年10月に「国際的な動物実験代替法の現状認識と将来の研究の方向性並びに動物を使用しない評価法の必要性に対する意識向上」を意図して ILSI 国際ワークショップを開催した。

今回、シンポジウム Session 1 では、食品領域における動物実験代替の現状と動向について ILSI 国際ワークショップの話題を中心に紹介する。

まず「食品行政・規制における動物実験代替の現状」では、背景情報として「動物愛護」および「動物実験代替」について、日本の法令での取り上げ方や産業界を巡る状況を整理する。その上で、食品関連規制に関して、規格基準の設定や最近作成された指針における動物実験代替の採用事例や課題を紹介する。さらに、行政がバックアップしている現在進行中の動物実験代替の取り組み、そして動物実験代替に関する今後の方針を紹介する。

続いて「食品領域における動物実験代替推進に向けて～国際ワークショップからの提言～」では、食品領域における動物実験代替に関する技術及び各技術の組み合わせによる評価戦略について海外での事例を踏まえて紹介する。さらにこれらの動向を元に今後食品領域における動物実験代替を推進するために重要な事項を ILSI 国際ワークショップにてステートメントとしてまとめた内容を紹介する。

## Session 2 : 動物実験代替の技術及び研究動向

### 運動できる“培養“筋細胞系をもちいた基盤研究と新展開

東北大学大学院 医工学研究科 教授 神崎展

生体を模した優れた培養細胞系は、基礎的研究から薬効評価などの応用研究に至るまで各種の研究開発分野において、有用なツールとして利用されている。しかし、活発な収縮活動する骨格筋の特性から、筋肉研究（特に運動関連研究）は、主に動物実験に依存してきた。これは筋細胞の収縮運動特性を再現できる培養系が乏しく、通常の培養条件で得られる筋細胞は収縮活動能力が決定的に欠如していることに起因する。神崎研究室では、培養筋細胞に対して適した電気パルス刺激(EPS)を付与することにより、マウス由来の筋細胞の収縮能力を飛躍的に発達させることを可能にし<sup>(1)</sup>、さらに栄養素組成やEPS条件を総合的に最適化することで生体筋の運動後にみられるいわゆる「運動効果」を再現可能な「運動できる“培養“筋細胞系」を世界に先駆けて構築した<sup>(2)</sup>。

一方、ヒト由来筋細胞では、マウス筋細胞系に比して、その収縮能力の発達が非常に貧弱であり、マイオカイン発現亢進などの運動刺激依存性の生物応答も微弱であるなど、解決すべき課題が存在していた。最近、私達は各種医工学的手法により、このヒト筋細胞の脆弱性を克服し、活発な収縮能力を獲得したヒト由来筋細胞の「運動できる“培養“筋細胞系」を新たに構築することに成功した<sup>(3,4)</sup>。さらに希少筋疾患患者の筋生検サンプルより採取した筋衛星細胞を用いた病態モデル系も構築している<sup>(5)</sup>。

ヒト由来の培養筋細胞に対して任意に運動刺激を負荷できる意義は極めて大きく、骨格筋を治療標的とした創薬研究（代謝能/インスリン感受性/サルコペニアなど）のみならず、栄養素/サプリメント効果の評価研究にもおおいに資するものである。また、希少筋疾患の病理機序の探索に加え、筋疾患患者では実施が不可能な運動負荷検査といった高次の筋細胞機能診断も可能になる。本シンポジウムでは運動できる“培養“ヒト筋細胞系をもちいた基盤研究と、その新展開の可能性について紹介したい。

(1) Fujita H. et al. *Exp. Cell Res.*313(9), 1853-, 2007.

(2) Nedachi T. et al. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 295(5), E1191-, 2008.

(3) Chen, W. et al. *Sci.Rep.*9(1),11914, 2019.

(4) Takahashi T. et al. *Sci. Rep.* 12(1), 14291, 2022.

(5) Li, Y. et al. *Sci.Rep.*12(1),1082, 2022.

## Session 2：動物実験代替の技術及び研究動向

### ヒト iPS 細胞由来腸管細胞と生体模倣システムの開発

名古屋市立大学 薬学研究科 教授 松永民秀

食品は、栄養成分の他に意図的に使用した食品添加物や残留農薬、自然に生成したカビ、環境中より混入あるいは食品製造・加工過程で非意図的に生成する化学物質など、様々な物が含まれている可能性が有る。これまで、食品の安全性及び機能性の評価には実験動物を用いる *in vivo* 試験と細胞を用いる *in vitro* 試験が行われてきた。動物実験は種差の問題に加え、動物愛護の観点からも動物実験代替法の開発が喫緊の課題である。*In vitro* 試験における腸管モデル細胞として、生体由来細胞が最も望ましいが、日常的に用いる細胞として入手するのは困難である。また、小腸の初代上皮細胞が凍結品として一部購入できるが、解凍後接着できず、生存期間が非常に短いことが課題である。そこで、ヒト結腸がん由来株化細胞、特に Caco-2 細胞が腸管モデル細胞として広く用いられている。Caco-2 細胞は長期培養により小腸の上皮細胞様の形態を有し、タイトジャンクションと極性を持った単細胞層を形成、多くのトランスポーターを発現している。しかし、Caco-2 細胞におけるトランスポーターや薬物代謝酵素の発現パターンは生体と異なり、タイトジャンクションも生体より強固であることが知られている。特に、腸管の主要な薬物代謝酵素である CYP3A4 の発現が非常に低く、誘導に関わる核内受容体 PXR もほとんど発現していないため誘導も認められない。また、小腸粘液層の主成分である MUC2 の発現も極めて低いことから、生体での吸収や安全性を予測する上では大きな問題である。ヒト iPS 細胞は、食品の安全性や機能性研究の新規支援材料として期待される。また、近年動物実験代替法の 1 つとして microphysiological system (MPS; 生体模倣モデル) が注目されている。

そこで、本講演ではヒト iPS 細胞から腸管細胞への分化誘導とその性質に加え、ヒト iPS 細胞由来腸管細胞を用いた MPS の活用について演者らの研究を中心に紹介する。

## Session 2 : 動物実験代替の技術及び研究動向

### インビトロおよびインシリコ手法による化学物質の安全性評価：課題と展望

静岡県立大学 薬学部 教授 吉成浩一

化学物質の安全性評価において、動物実験代替法の開発は喫緊の課題である。しかし、反復投与毒性や発がん性などの、機序が複雑で表現型が多様な毒性では開発はほとんど進んでいない。また、インシリコ手法による代替法の開発が期待されているが、予測精度の向上に必要な量の毒性試験データが十分に得られないこと、毒性発現機序の考慮が難しく、予測結果が研究開発者や規制当局に受け入れられにくいことなどの問題がある。

インビトロ試験やインシリコ手法による安全性評価の課題の1つは、代謝物による毒性の予測である。現状、代謝物の構造予測は非常に困難であり、よって代謝物が関与する毒性のインシリコ予測も難しい。インビトロ評価では、高度培養系を含む初代培養細胞の利用や反応性代謝物のトラッピングアッセイなど、様々な試験系が活用されている。私達は、より単純な評価系として、主要な薬物代謝酵素であるシトクロム P450 分子種との反応パターンを利用した毒性評価に関する研究を進め、ある特定の分子種の阻害と医薬品肝毒性の関連性などを見出している。他方、既存の毒性試験情報を活用した安全性評価手法として、リードアクロスが注目されている。本手法では、化学的・生物学的特徴の類似性に基づいて化学物質をグループ化し、同じグループに含まれる化学物質の毒性試験結果から、未試験物質の毒性を評価する。欧米を中心に実用化が検討されているが、我が国での研究は非常に限られている。また、本手法は専門家判断への依存が大きく、客観性や再現性の問題も指摘されている。そこで私達は、発達神経毒性や反復投与毒性を対象として、インビトロ・インシリコ手法を活用した客観的なリードアクロス手法の開発を目指した基礎研究を進めている。

本セッションでは、私達の最近の研究成果を紹介し、反復投与毒性等の複雑な毒性の予測・評価手法の開発における現状の課題と今後の展望を議論したい。

## Session 2 : 動物実験代替の技術及び研究動向

### 食品領域における動物実験推進に向けたリスク評価戦略構築の取り組み

ILSI Japan 土屋祐弥

ILSI Japan では、食品の安全性および機能性評価において動物に依存せず、かつ、ヒトへの予測性の高い評価戦略を確立し、進展させることを目的とした「食品領域の動物実験代替推進プロジェクト (Alternative Animal Testing (AAT) project)」を 2018 年に立ち上げた。本 AAT プロジェクトでは、「データベース」および「体内曝露予測」の 2 つのワーキング活動を行っており、データベースワーキングでは、化学物質の反復投与毒性評価支援システムである HESS を活用し、食品成分の反復投与毒性試験情報を追加することで毒性予測の精緻化を、体内曝露予測ワーキングでは、*in silico* および *in vitro* モデルを活用することで食品成分の体内曝露予測を目指している。さらに、動物に依存しない食品成分の安全性評価戦略の策定と情報発信を目的とした「ケースレポート」ワーキングを 2020 年に立ち上げた。本ワーキングでは、データベースおよび体内曝露予測の各ワーキング活動から得られた情報を活用し、*in vitro* 評価系を加えた評価戦略の具体事例の発信を目指している。第一弾のケーススタディとして「肝障害」を、評価対象物質としてヒトおよびラットにて肝毒性の報告がある「ピロリジンアルカロイド」を選択し、New Approach methodologies (NAMs) を用いた評価戦略の妥当性を確認するため、ラット肝細胞を用いた試験から *in vitro* Point of Departure (PoD) を求め、評価スキームの検証を行っている。

本発表では、食品分野における NAMs を用いた評価戦略に関する ILSI Japan AAT プロジェクトの取り組みと、ラット肝細胞を用いた *in vitro* 肝毒性評価の現状と課題について紹介する。