

一般財団法人残留農薬研究所 化学部

令和 8 年度調査研究計画書

令和 8 年 6 月 26 日

令和 8 年度調査研究計画書

課題 1

室 名 及 び 担 当 者	化学部 笠神威雄 (研究総括) 代謝第 1 研究室 杉岡大介
課 題 名	ヒトにおける代謝物プロファイル推定試験系の確立 — ^{[14]C} メトキシクロル代謝物の同定・構造推定—
目 的	農薬の開発では、候補化合物の動物での <i>in vivo</i> データ (毒性試験及びラット代謝試験) からヒトに対するリスクを評価し、またヒト及び他動物種の組織や酵素系での <i>in vitro</i> 代謝データが補足的にリスク評価に利用されている。ヒト由来の肝ミクロソームや肝細胞など、ヒト試料による <i>in vitro</i> 代謝実験は汎用の手法であるが、ヒトにおける <i>in vivo</i> での代謝物プロファイルを網羅的に予測することは難しく、また <i>in vitro</i> 代謝だけでは排泄経路の特定には至らない。近年、ヒト肝キメラマウス (ヒト肝細胞を有するキメラマウス) が評価動物として注目されており、既存の動物実験や <i>in vitro</i> 代謝実験では得られないデータを取得できる可能性があると考ええる。本研究は、メトキシクロル代謝をモデル反応として、 <i>in vitro</i> 代謝およびヒト肝キメラマウスでの <i>in vivo</i> 代謝を比較、検証し、ヒトにおける代謝物プロファイル推定試験系の確立を目指すものである。
調 査 研 究 期 間	令和 8 年 4 月 1 日から令和 9 年 3 月 31 日 1 年計画の 1 年目
前年度までの 結 果 の 概 要	令和 5 年度から令和 7 年度に実施した調査研究 (IET 23-1015) においてメトキシクロル (MXC) の <i>in vitro</i> 及び <i>in vivo</i> 代謝実験を実施した。概要は以下の通りである。 <i>In vitro</i> 代謝実験において、3 つの試験区 (試験区 1: 補酵素無添加、試験区 2: 第 1 相反応の補酵素 NADPH のみを添加、試験区 3: 第 1 及び第 2 相反応の補酵素 NADPH、UDPGA 及び PAPS を添加) で反応させたとき、試験区 2 (第 1 相反応) では、各動物種 (供試動物種: マウス、ラット、イヌ、ウサギ、ヤギ及びヒト; ヤギ (雌) を除き、いずれも雌雄) において MXC から段階的に酸化・O-脱メチル化された Mono-OH-MXC と Bis-OH-MXC が検出された。その他数種の成分も検出され、O-脱メチル化以外の代謝 (酸化と脱塩化水素化) も推察された。これらの生成量は動物種間で差が認められた。生体内代謝に近い試験区 3 では、各動物種から Mono-OH-MXC と Bis-OH-MXC のグルクロン酸抱合体と推定

される成分が主要な代謝物として検出された。また、Mono-OH-MXC+O のグルクロン酸抱合体も検出された。さらにヒトでは、Bis-OH-MXC 由来の 2 種の硫酸抱合体と Mono-OH-MXC の硫酸抱合体も推定されたことから、ヒトでは MXC の代謝にグルクロン酸抱合と硫酸抱合の両者が寄与していることが推察され、ヒトでの *in vivo* における代謝物プロファイルは他の動物種とは定性的、定量的に差異があることが示唆された。

以上の結果を踏まえ、通常マウス及びヒト肝キメラマウスによる *in vivo* 代謝実験（尿及び糞中代謝物プロファイルの比較・検討）を実施した。すなわち、 $[^{14}\text{C}]$ MXC を雌雄の ICR マウスまたは雄の PXB マウスに 2 mg/kg 体重で単回強制経口投与し、MXC 及び代謝物の尿及び糞への排泄量及び体内残留量を測定した。さらに、尿及び糞中の放射性成分を HPLC により分離し、各代謝物成分の定量を行った。試料中の放射能及び放射性成分の量は、投与量に対する比（% of the administered dose, %AD）で表示した。

ICR マウス投与群では、投与後 96 時間までに投与放射能の大部分が尿及び糞中に速やかに排泄され、主要な排泄経路は糞であった（尿：16～26%AD，糞：66～73%AD）。尿，糞及びケージ洗液より回収された総排泄率は 90～93%AD であり、投与 96 時間後の体内に残留していた放射能は 0.2～0.3%AD であった。排泄に顕著な性差は認められなかった。

一方、PXB マウス投与群では、投与後 96 時間までに投与放射能のほとんどが尿及び糞中に速やかに排泄されたが、主要排泄経路は尿であった（尿：59%AD，糞：33%AD）。尿，糞及びケージ洗液より回収された総排泄率は 98%AD であり、投与 96 時間後の体内に残留していた放射能は 1.25%AD であった。

代謝物プロファイルについては、ICR マウス及び PXB マウス間で質的に類似していた。すなわち、両群ともに尿中では保持時間約 10～20 分の範囲に、糞中では保持時間約 20～30 分の範囲に主要成分が検出された。尿中では、Reg.#14, #16, #17, #18, #20, #21, #22 及び#23 が主要成分として認められ、このうち ICR マウスでは Reg.#14 (2.0～3.4%AD), #16 (2.0～3.4%AD) 及び#22 (1.2～9.7%AD) が比較的高い割合で検出されたのに対し、PXB マウスでは Reg.#23 (16.3%AD) の割合が高く、両群間で主要成分の構成に差が認められた。糞中では、Reg.#22, #24, #26, #28, #31, #34 及び#37 が主要成分として検出され、各成分の割合は ICR マウスと PXB マウスで概

	ね類似した。 以上より、ICR マウスでは糞を主要排泄経路とするに対し、PXB マウスでは尿が主要排泄経路であり、排泄経路に明確な差が認められた。一方で、代謝物プロファイルの質的な違いは明確でなかったことから、両者における排泄経路の差は、代謝物の生成様式そのものではなく、排泄機構の違いに起因すると考えられた。
調査研究方法の概要	前調査研究 (IET 23-1015) において、<i>in vitro</i> 代謝実験で同定または構造推定に至らなかった成分が複数存在する。また、無処置マウス並びにヒト肝キメラマウスでの <i>in vivo</i> 代謝実験においては、主要代謝物の同定・構造推定が未実施である。 以上のことから、当調査研究では代謝物の同定・構造推定を主たる目的とする。<i>In vivo</i> 代謝試料については採材済みであるが、<i>in vitro</i> 代謝試料において新たに反応して調製を実施する予定である。なお、MXC 及びその代謝物は ESI でのイオン化が困難な可能性があるため、新規に導入された高感度な質量分析装置 (Xevo G3 QTof) を活用し、ESI 法に加え、GC と組み合わせた APGC (APCI) 法を用いることで、未同定代謝物の検出及び構造推定を進める。 これまでの知見から、経口投与された MXC は腸管内において腸内細菌により還元的脱塩素を受け、生成した代謝物が体内へ吸収される可能性が考えられる。しかし、この過程を直接確認した事例はなく、腸管内で生成され、体内に吸収される代謝物を明らかにすることは、MXC の代謝経路を解明する上で重要である。令和 8 年度に実施する代謝物の同定・構造推定において、ヒトにおける還元的脱塩素体の生成が推測された場合、当該代謝物が腸管内で生成された可能性があるかどうか、門脈カニューレーション動物を用いて検討する予定である。
試験条件	1) 被験物質 初年度に引き続きモデル化合物としてメトキシクロル (MXC) を使用し、被験物質としては、網羅的な代謝物プロファイルの推定が可能な¹⁴C]MXC を継続使用する。 2) <i>In vivo</i> 代謝実験 (継続) 無処置マウス並びにヒト肝キメラマウスに¹⁴C]MXC を経口投与して得られた尿及び糞中の代謝物の同定・構造推定を実施する。 3) <i>In vitro</i> 代謝実験 (継続) 同定・構造推定に至らなかった成分について LC/MS/MS 分析を継続し、追加で <i>in vitro</i> 代謝反応を行い分析試料を調製する。イオン化

	法として ESI (negative mode) を使用してきたが、MS データが取得できなかった第 1 相反応での成分については、別のイオン化法や誘導体化の検討も継続する。 4) 門脈カニューレーション動物を用いた検討 門脈カニューレーション動物に^[14C]MXC を経口投与し、投与後に採取した門脈血中の代謝物プロファイルを調査する。これにより、還元的脱塩素体が腸管内で生成され、体内へ吸収される可能性について検討する。
令和 8 年度 経 費	研究職職員の年間従事時間：240 時間 <i>In vivo</i>・<i>in vitro</i> 代謝実験用の代謝酵素，補酵素並びに関連試薬類：200 万円
備 考	

一般財団法人残留農薬研究所 毒性部

令和 8 年度調査研究計画書

令和 8 年 4 月 1 日

令和 8 年度調査研究計画書

課題 1

部 ・ 室 名 及 担 当 者 名	生殖・発生毒性研究室：西岡康（研究総括），糟谷沙保里，高橋研 選任獣医師：武田眞記夫 技術顧問：青山博昭
課 題 名	毒性試験に用いる実験動物の遺伝学的基盤の整備（ラット／マウスの 遺伝学的基盤の整備）： アウトブレット動物に保持される突然変異遺伝子およびステロイド ホルモンに対する感受性を修飾する遺伝子群の解析
目 的	通常毒性試験では、遺伝的に不均一なヒト集団のモデルとして、ある程度の遺伝的多様性を持たせたアウトブレットの動物集団が好んで用いられる。近親交配を避けて維持されるアウトブレット動物の集団内には様々な遺伝子多型（変異）が含まれており、これらの中には化学物質に対する反応性に個体差を生み出すものも数多く含まれると推測される。この様な個体差の存在はアウトブレット動物をヒトのモデルとして利用する最大の利点であるものの、これらの遺伝子多型や変異が実験結果に悪影響を及ぼす場合もある。例えば、投与物質に対する感受性の鈍い個体ばかりが特定の投与群に偏って出現すると、用量反応関係が見かけ上消失し、実験結果に誤った結論が下される恐れがある。また、動物集団に含まれる様々な潜在突然変異遺伝子は、特に生殖・発生毒性試験で観察される胎児奇形を始めとして、しばしば毒性評価に支障を来す形質を誘発する。そこで、本研究では、アウトブレット動物の集団に保持される様々な遺伝子多型のうち、特に毒性試験の結果を解釈する上で支障となるような多型や変異に注目して、それらを可能な限り同定すると共に確定診断技術の開発に努め、実験動物の遺伝的基盤を整備することを目的とする。また、これらの成果として明らかにされる遺伝子多型には、化合物の毒性を模倣する作用や毒性そのものを修飾する効果を持つものも含まれる場合があるため、その様な遺伝子多型が表現型に及ぼす影響についても積極的に調査して、得られた成果を毒性学の進展に還元する。
調 査 研 究 期 間	令和 8 年 4 月 1 日から令和 11 年 3 月 31 日 3 年計画の 1 年目
前年度までの 結 果 の 概 要	ラットの事業に関しては、主として腎欠損（absent kidney）を誘発する AK ラットを対象に原因遺伝子変異の探索を継続してきた。昨年度は、腎臓形成の時期を中心に RNA-seq 解析による遺伝子発現の

	調査や X 線 CT を用いた腎臓の発生過程の観察といった手法によって、原因遺伝子変異の特定を試みる予定であった。しかし、その他の事業の実施に注力したため、特段の進捗がなかった。 マウスの事業では、<i>Aqp12</i> 遺伝子の多型に着目してこの遺伝的変異がエストロゲンに対する子宮の応答性に及ぼす影響について検討を続けている。これまでに野生型と考えられる C57BL/6JJcl マウス (<i>Aqp12</i> 遺伝子について+/+) に C3H 型の遺伝子多型を導入したマウスと、この遺伝子をノックアウトしたマウスの両者を用いて、前期発情期および後期発情期に限って子宮の湿重量と実質重量の両者もしくは実質重量のみに有意な増加がみられることを明らかにした。これらの結果は、<i>Aqp12</i> 遺伝子が子宮実質からの水分排泄に関与する可能性を示唆するものと考えられる。また、雄については、遺伝子組み換え個体 (C3H 型の遺伝子を持つ個体) の精巣重量が正常個体と比較して有意に低いことが確認された。しかし、現時点では子宮および精巣における <i>Aqp12</i> 遺伝子の発現を確認するには至っておらず、抗 <i>Aqp12</i> 抗体を用いた免疫染色においても、標的器官と思われる子宮や精巣に当該遺伝子産物の発現を確認することができなかった。さらに、<i>Aqp12</i> 以外の遺伝子座については、未だ解析に着手することができていない。
調査研究方法の概要及び試験条件	1. ラット事業 別途実施する拡張世代試験のデータ集計や各種検査を優先しつつ、以下の課題にも可能な限り取り組む。 1.1. 腎欠損ラット AK (候補遺伝子 <i>Lrp1</i>) NGS 解析によって候補領域内に <i>Lrp1</i> のインフレーム欠失を検出したものの、これまで本遺伝子が腎臓発生に関与するとの報告がないため、先の解析において候補突然変異を見落とした可能性は依然として残される。そこで、腎欠損が生じる直前の胚を用いて RNAseq 解析を実施し、候補領域内の遺伝子を対象に mRNA の発現を調べ、改めて <i>Lrp1</i> と腎欠損との関連を検証する必要がある。その前段階として腎欠損が生じる時期の特定をするため、妊娠 11-14 日の胚について理化学研究所に依頼してマイクロ CT で形態的解析を試みる。 1.2. <i>Ift140</i> 変異ラットを用いたフタル酸エステル類の毒性メカニズムの検討 本事業では、四肢の多指、停留精巣および乏精子症といった表現型を特徴とする PD ラットの責任変異が、繊毛の形成や機能に必要な <i>Ift140</i> 遺伝子の突然変異であることを明らかにしてきた。また、PD ラットと <i>Ift140</i> KO ラットを用いた交配実験により、変異アレルの

	組み合わせによって外脳症が発現することも報告した。一方、環境汚染物質として知られるフタル酸エステル類は、げっ歯類に対して外脳症、多指症、停留精巣、乏精子症などを示すことが報告されている。これらの事実は、フタル酸エステル類の毒性発現メカニズムに繊毛を介したシグナル経路のかく乱が関与している可能性を示唆している。そこで、この仮説を検証すべく、妊娠期間中の PD または <i>Ift140</i>KO ラットにフタル酸エステル類を投与して、胎児に発現する毒性症状を観察し、それらの発現強度と遺伝子型の間に連関がないか調べる。 1.3. 新規突然変異の解析 その他にも分離可能な新規突然変異形質に遭遇した場合には、積極的に表現型の解析と原因遺伝子の同定に取り組む。 2. マウスを用いたエストロゲンに対する子宮の応答性に及ぼす遺伝要因の解析 今後は、標的器官における <i>Aqp12</i> 遺伝子の発現を、卵巣および子宮を対象として、RT-PCR により mRNA レベルで解析する。その際は、当該遺伝子の明瞭な発言が報告されている臍臓を陽性対照とする。また、この遺伝子変異と精巣重量との間に明瞭な相関関係が観察されているので、精巣、精巣上体及び精管を対象として、この遺伝子の発現を確認する。 RT-PCR により当該遺伝子の発現の有無が確認され次第、それらの成果を論文に取りまとめるとともに、論文発表後は理研バイオリソースセンターにマウスを寄託して、この研究を終了する。
令和 8 年度 経 費	研究職職員の年間従事時間：約 100 時間 RNA-seq 解析、候補遺伝子のクローニング及びシーケンシング等の外注：約 80 万円 動物、飼料及び試薬等の購入：約 50 万円
備 考	成果の公表：表皮水疱症ラットの解析結果を取りまとめ、Laboratory Investigation 誌に論文発表した。

課題 2

室 名 及 び 担 当 者	生殖・発生毒性研究室：高橋研（研究総括）、西岡康、糟谷佐保里
課 題 名	毒性試験に用いる実験動物の遺伝学的基盤の整備（ウサギの遺伝学的基盤の整備）：ウサギの系統差に着目した背景データの蓄積
目 的	残留農薬研究所では、これまで日本白色種（Japanese White, JW）ウサギを用いて発生毒性試験を実施しており、この系統については十

	分な背景データの蓄積がある。しかし、世界的に広く用いられているニュージーランド白色種（New Zealand White, NZW）を用いて発生毒性試験を実施した経験はこれまでになく、様々な化合物のウサギに対する発生毒性に関する系統差を検討するための基盤となる背景データの蓄積もない。 そこで、本課題においては、発生毒性試験に汎用されるウサギの代表的なアウトブレッド系統（NZW ウサギ）を対象として、毒性評価の基礎となるデータの蓄積を目的に、標準的な発生毒性試験で評価される指標に関するデータを収集する。
調 査 研 究 期 間	令和 6 年 4 月 1 日から令和 9 年 3 月 31 日 3 年計画の 3 年目
前年度までの 結 果 の 概 要	これまでの取り組みでは、NZW ウサギの系統特性を把握すべく、生産場で自然交配させた雌ウサギを当研究所へ導入する方法と、導入後に人工授精を行なう方法の 2 種類について、検討を行なってきた。その結果、日本白色種に比べてストレスに対する感受性の高い NZW ウサギは後者の方法が適切であることを明らかにした。また、これらの取り組みによって発生毒性試験 2 試験分の背景対照値を蓄積することができた。昨年度は、ウサギを用いた発生毒性試験において観察される胎児奇形が突然変異遺伝子によって誘発されたものか否かを確認する方法を確立する準備として、雄ウサギから採取した精液の凍結保存技術の検討を行った。NZW 雄ウサギ 3 匹から精液を採取し、トリス・卵黄液による 1 次希釈の後約 3 時間かけて 5 °C まで徐々に温度を低下させた。希釈精液はグリセリン添加トリス・卵黄液による 2 次希釈、30 分間のグリセリン平衡を行った後に 10 分間液体窒素ガス中にさらして凍結させ、液体窒素中に投入した。液体窒素中の凍結精液は 30 分もしくは 4 日後に 40 °C の温湯で解凍して直ちに精子活性を位相差顕微鏡下で観察した。その結果、30 分および 4 日間凍結後のいずれにおいても解凍した希釈精液中のほとんどの精子に運動性が認められたが、活性は極めて不良であり、人工授精に用いるには適さないと考えられた。一次希釈、緩徐冷却、二次希釈、グリセリン平衡、凍結の各段階において一部の精液を 40 °C に加温し、各段階で活性が保たれているかを確認したところ、グリセリン添加トリス・卵黄液を加えると凍結保存前であっても前進性の低下がみられたため、グリセリン添加が精子の前進性を物理的に妨げている可能性が考えられたため、解凍後の精液を生理食塩水で二倍希釈したところ精子の回転運動がみられるようになった。凍結時の冷却効率の向上のために精液凍

	結用ストローを容器に使用したところ、解凍後生理食塩水で2倍希釈した精液内の精子には前進性が観察された。2025年に受託実施したウサギ発生毒性試験の1試験において妊娠率の低迷がみられたため、2系統の雌ウサギそれぞれ10匹を購入して人工授精手技の検討を行ったが、すべての動物に妊娠が認められたため、人工授精の手技と生産場の動物の妊娠率に大きな問題は起こっていないと考えた。
調査研究 方法の概要 及び 試験条件	ウサギ凍結精子の解凍後のさらなる活性向上を目指して手法の改善を図る。また、解凍精子を用いて雌ウサギに人工授精を行い、妊娠率などの繁殖成績を検討する。
令和8年度 経費	研究職職員の年間従事時間：約50時間 動物、飼料及び試薬等の購入：約150万円
備考	成果の公表：データがまとまり次第、日本先天異常学会、日本毒性学会等、関連学会にて発表予定

課題3

部・室名 及び 担当者名	生殖・発生毒性研究室：西岡康（研究総括）、高橋研、糟谷佐保里 病理研究室：小山彩、藤原千夏 短期毒性研究室：小坂忠司、元村淳子 化学部残留第1研究室：近藤圭 化学部残留第2研究室：富山成人、児玉芽吹
課題名	甲状腺影響を適切に評価するための遺伝学的・栄養学的基盤情報の整備
目的	近年、化学物質の甲状腺影響とそれらを介した発達神経毒性（DNT）の懸念から、欧米諸国を中心として Comparative thyroid assay (CTA) や DNT コホートを含む拡張世代試験（EOGRT）の実施事例が増えている。しかし、このような国際的な潮流に反し、我が国における CTA や EOGRT の実施体制は殆ど整っていない。可及的速やかな体制整備には、これらの試験種について血中甲状腺ホルモン（TH）濃度を始めとする背景データや陽性対照データの取得と蓄積が必要とされる。また、これらの取り組みに並行し、試験法の妥当性の検証や新たな技術開発といった評価体制の整備も急務である。例えば、2016年から2018年にかけて、OECDは甲状腺影響を含む内分泌かく乱作用の検出力向上を目的として一連のガイドラインを改定した。結果として、一部の試験では飼料中の植物エストロゲン含量を適正に保つことが求められることとなった。しかし、本改定に従うためには、国内の多くの試

	験施設が従前より使用する飼料からの切り替えを迫られ、これまでに蓄積した背景データを事実上放棄することを余儀なくされる。また、飼料変更による効果に関しても、エストロゲン作動系に対する影響を除いて甚だ知見に乏しく、その要否については、更なる知見の蓄積をもって判断すべきと考えられる。その他にも、新たな技術開発が求められる領域として、今後は欧米を中心に脳中 TH 濃度のデータがリスク評価に活用されると予測されることから、その測定技術の確立は我が国のリスク評価体制の整備にとっても不可欠である。また、我が国において将来に亘って適切なリスク評価を継続していくためには、検査者の労働負担軽減に繋がる作業効率の改善および診断精度の向上を目指したデジタル技術の活用も求められる。 本課題では、先に述べたような甲状腺影響評価に係る諸問題に対処すべく、①CTA や EOGRT など求められる条件で血中 TH 濃度を始めとする背景データの取得に努めるとともに、②飼料中の植物エストロゲン含量の違いが甲状腺影響を含む内分泌かく乱作用に関連した指標に及ぼし得る影響について検討することとする。また、これらの検討に加え、③脳中ホルモン濃度測定技術や画像 AI を活用した病理診断支援技術などの甲状腺影響の評価に資する新たな基盤技術の開発にも努める。
調 査 研 究 期 間	令和 6 年 4 月 1 日から令和 9 年 3 月 31 日 3 年計画の 3 年目
前年度までの結果の概要	本課題では、EOGRT の利用を強く推進する昨今の欧州の姿勢を鑑み、国内施設における試験実装の可能性を検討すべく、EOGRT の実施ならびに問題点の洗い出しなどを試みた。令和 7 年度は、ガイドラインの推奨に対して半数の動物 (12 匹/性/群/世代) を用い、それらに抗甲状腺薬である PTU を 0, 1, 3 および 6 ppm の濃度で投与して、インライフフェーズの試験を実施した。その結果、甲状腺影響として期待される変化として、P 親動物および F1-1A 動物などに甲状腺重量の増加 (3 ppm 以上)、F1 哺育児の体重低下 (6 ppm) などが用量相関を伴って観察され、試験条件の妥当性が確認された。また、試験規模を半減した条件であるものの、複雑な設計のインライフ試験を大きな問題なく完遂することができた。脳中 TH 濃度の測定法確立については、先天性甲状腺機能低下症ラット (Wistar Hannover GALAS) に対して PTU を 20 ppm の濃度で混合したヨウ素欠乏飼料を 3 週間に亘って与え、これらを剖検してブランク試料とする脳を採取した。画像 AI を活用した病理診断支援技術の開発については、予備的な検討によっ

	て YOLO V8x が YOLO V8l に比してコロイド予測モデル作成において優れていることを明らかにした。また、上下反転のデータ拡張を施した画像を再学習させることでモデルの精度が向上することなどを見出した。
調 査 研 究 方 法 の 概 要 及 試 験 条 件	令和 8 年度は、引き続きデータ集計とともに、採取した試料を用いた検査・分析などを進める。令和 6 年度より開始した新規課題についても、実用化に向けた開発に積極的に取り組む。以下に、令和 8 年度の計画を記す。 1. <u>EOGRT 背景データ採取</u> 1.1. P 親動物の剖検時に採取した血液と各種臓器を用い、血中 TH/TSH 濃度測定と病理組織学的検査（生殖器、甲状腺、脳、神経、免疫系、消化管、肺、筋肉など）を実施する。また、雄の剖検時に採取した精子試料を用いて精巣上体精子の数および形態検査を行なう。 1.2. 離乳後 13 週間の投与期間を経て剖検したコホート 1A の F1 雌雄を対象に、血中 TH/TSH 濃度測定と病理組織学的検査（同上）を行なう。雄については、精子検査も実施する（同上）。 1.3. 生後 75~90 日で剖検したコホート 2A の F1 雌雄については、灌流固定して得られた神経組織を用いて、神経病理組織学的検査を行なう。 1.4. 生後 22 日に剖検したコホート 2B の F1 動物については、浸漬固定した脳を用いて神経病理学的検査を行なう。 1.5. さらに、生後 4 日齢と 22 日齢の F1 動物を対象に、血中 TH/TSH 濃度測定を行なう。 1.6. その他、各世代・性のインライフフェーズで取得した尿検査、血液学/血液生化学的検査、行動試験、脾臓リンパ球サブセットといったデータについても集計と統計解析を進める。 2. <u>脳中 TH 測定法の確立</u> 2.1. 令和 8 年度は、先に採取したブランク試料を用いて脳中 T3 および T4 濃度の分析法バリデーションを進める。 2.2. バリデーションの実施に当たり、試料汚染を予防する観点から、脳組織の均質化法を高圧・高速式ホモジナイザーを用いる従来法からビーズ式ホモジナイザーを用いる方法へ変更することを試みる。 2.3. 必要に応じて、ホモおよびヘテロ型個体の血中および脳中 TH 濃度を測定して比較することも検討する。

	3. <u>画像 AI を活用した病理診断支援技術の開発</u> 3.1. 昨年度の検討で認識精度が良好であった YOLO V8x に上下反転のデータ拡張を施した画像を再学習させたモデルを基準として検討を実施する。 3.2. 令和 7 年度に実施した追加教師画像についても上下反転のデータ拡張を実施し、上記モデルに再学習させ、作成したモデルの精度を評価する。 3.3. 令和 7 年度に実施した EOGRT 背景データ採取試験における PTU 群の動物の甲状腺 HE 染色画像についてもコロイドを正しく予測できるか確認する。予測精度が低い場合は、当該動物の教師データを用いた再学習や、YOLO 以外のモデルを用いた新規モデルの構築を検討する。 3.4. 作成したモデルを用いてコロイドを予測させ、その面積を求めることで、数値による甲状腺の毒性評価が可能であるか、病理医による評価と比較、検討する。 4. <u>飼料中の植物エストロゲンおよびヨウ素濃度のモニター</u> 4.1. 当研究所に導入する MF 飼料について、ロットごとに植物エストロゲン含量とヨウ素含量を調べる。
令和 8 年度 経 費	研究職職員の年間従事時間：約 200 時間 飼料中の植物エストロゲンなどの分析（外部委託）：約 120 万円 解析用 PC アップデート：約 70 万円 その他試薬など：約 100 万円
備 考	成果の公表：データがまとまり次第，日本先天異常学会，日本毒性学会等，関連学会にて発表予定

課題 4

部 ・ 室 名 及 び 担 当 者 名	短期毒性研究室：和田邦生（研究総括），阿部美咲樹， 中山美和，岩佐優花，竹澤祐造，元廣柚芽，元村淳子
課 題 名	（定量的）構造活性相関を含めた遺伝毒性の評価
目 的	近年の動物試験代替法の流れから <i>in silico</i> による毒性評価の重要性が高まっている。遺伝毒性分野は他毒性分野に先行し，医薬品不純物の Ames 試験において，（定量的）構造活性相関（以下，(Q) SAR）による変異原性評価が可能となった（ICH M7 ガイダンス）。(Q) SAR とは毒性試験を行うことなく，データベースをもとに毒性を推定し，そ

	の結果は毒性試験データの代替として活用される。 本研究では遺伝毒性分野の(Q) SAR の導入と活用を行う。ICH M7 ガイダンスでは、統計ベースと知識ベースの二つを用いた評価が必要である。そこで二つの(Q) SAR による予測結果と、Ames 試験を中心とした他の遺伝毒性試験の結果を総合的に判断する。また、EFSA の農薬代謝物評価スキームを念頭に入れながら、毒性評価の発展に寄与する。
調 査 研 究 期 間	令和 8 年 4 月 1 日から令和 11 年 3 月 31 日 3 年計画の 1 年目
前年度までの結果の概要	初年度のため無し
調 査 研 究 方法の概要 及 び 試 験 条 件	本研究では、(Q) SAR を活用した遺伝毒性評価手法の体系化を目的とする。まず初めに(Q) SAR 手法の導入および基盤整備を行うため、モデル薬物を用いた基礎的な解析を実施し、他の遺伝毒性試験データと比較することで、その妥当性を検証する。(Q) SAR 評価で陽性の場合にはフォローアップとして Ames 試験を実施し、(Q) SAR 予測においてアラートが検出された場合の予測性能向上を図る。 モデル薬物の代謝物に着目した評価を行うとともに、Ames 試験のデータが少ない TA97 等の菌株や、一般とは異なる条件下の S9 に関する実験データを蓄積し、(Q) SAR データベースの補完とする。また、農薬に特異的な化学構造を対象として(Q) SAR 解析を拡張する。 最終的に、予測される代謝物・分解物の構造情報に基づき、(Q) SAR および他の遺伝毒性試験結果を統合して評価する総合的手法の確立を目指す。
令和 8 年度 経 費	研究職職員の年間従事時間：約 100 時間 QSAR ソフト ICHM7 対応 知識ベース (Derek Nexus, Lhasa Limited)：約 300 万円 QSAR ソフト ICHM7 対応 統計ベース (CASE Ultra, MultiCASE Inc.)：約 140 万円 Ames 試薬：約 30 万円
備 考	成果の公表：データがまとまり次第、日本環境変異原ゲノム学会にて発表予定