

日本バイオアッセイ研究センターにおける試験手順書からの逸脱行為事案による規制等への影響評価に関する検討会 報告書（案）

令和3年7月

1 検討会の趣旨

本検討会は、(独)労働者健康安全機構の日本バイオアッセイ研究センターにおける試験方法に関する手順書からの逸脱行為事案について、「日本バイオアッセイ研究センターにおける試験手順書からの逸脱行為事案に関する検討会」（以下「逸脱行為事案検討会」という。）における調査結果を踏まえ、①逸脱行為事案が試験結果に与える影響の評価、②逸脱行為事案が労働者の健康障害防止にかかる化学物質のリスク評価や規制に与えた影響の評価、③逸脱行為事案にかかる試験の再試験の可否等について検討することを目的とする。

2 検討方法

(1) 検討の対象となる試験

逸脱行為事案検討会において、

- ① 調査の結果、2020年に行われた複数の強制経口投与試験において、瀕死、状態異常などの理由で投与実施が困難な動物についてその日は投与を中止するとの試験計画書等の記述に基づき、動物の一般状態を踏まえ被験物質の投与を中止した、又は規定量より投与量を減らして投与した場合に、投与状況の記録に規定量を投与したと記録していたことが確認されたこと（また、投与状況の記録は毎日試験責任者の確認を受けるととされていたが、実際には1週間に1度1週間分をまとめて確認を受けていたという逸脱行為も確認された。）
- ② 瀕死、状態異常などの理由で投与実施が困難な動物についてその日は投与を中止することがあったのは、2015年以降の強制経口投与試験においてと考えられるが、上記①の試験を除き、具体的にどの試験で逸脱行為が行われたのかを特定する情報は得られなかったこと

との調査結果を踏まえ、2015年以降に厚生労働省が指示等した強制経口投与試験であるラット肝中期発がん性試験又は遺伝子改変動物を用いた中期発がん性試験（13物質分、別添参照）について、逸脱行為が試験結果に与える影響等について検討した。

(2) 検討方法

逸脱行為事案検討会の調査においては、

- ① 瀕死、状態異常などの理由で投与実施が困難な動物に対して、試験計画書等の記述に基づき被験物質の投与を中止することが行われていたこと

② 投与実施が困難な瀕死、状態異常の動物については、全てではないものの投与状況の記録とは別に、「要注意動物観察記録」を残すことが確認された。

このことを踏まえ、「要注意動物観察記録」に動物の状態変化の記録がある動物については、「投与を中止した、又は規定量より投与量を減らして投与したときに、規定量を投与したように記録した」可能性があること、また、こうした行為により試験の対象となった化学物質の有害性を過小評価する可能性があることを考慮し、試験結果の対象となっている動物から、『要注意動物観察記録』に動物の状態変化の記録がある動物のうち試験結果から除外することが適当と考えられる動物（以下「要精査動物」という。）を全数除外して試験結果を再集計した上で、試験としての成立の可否及びこれまでの試験結果の評価との差異について検討した。

その際、ラット肝中期発がん性試験と遺伝子改変動物を用いた中期発がん性試験では死亡又は切迫屠殺（以下「死亡等」という。）した動物の取扱いが異なり、今回検討の対象となった試験においては、前者では肝臓の前がん病変（GST-P 陽性細胞巣）の単位面積当たりの個数及び面積の試験結果に死亡等した動物のデータは含まれていないのに対し、後者では腫瘍発生数の試験結果に死亡等した動物のデータは含まれているといった違いがあることを勘案し、

○ ラット肝中期発がん性試験においては、「要注意動物観察記録」に動物の状態変化の記録がある動物のうち、試験期間中に死亡等せず、最終的な評価対象となっていた動物

○ 遺伝子改変マウスを用いた中期発がん性試験においては、「要注意動物観察記録」に動物の状態変化の記録がある動物のうち、腫瘍が発生していない動物をそれぞれの試験における要精査動物とした。

なお、投与状況を記録した報告について1週間分まとめて試験責任者の確認を受けていたという逸脱行為に関しては、試験結果に影響を及ぼすものではないことから、検討に際し考慮はしていない。

3 検討結果

① 発がん性評価WG（注）において試験結果の評価を実施済みの試験のうち要精査動物が存在した試験（4物質、6試験）

厚生労働省が開催する発がん性評価WGにおいて試験結果の評価を実施済みの試験（10物質、14試験）のうち、要精査動物が存在した試験は4物質を対象とした6試験（ラット肝中期発がん性試験3試験（試験番号871、880、927）、遺伝子改変動物を用いた中期発がん性試験3試験（試験番号900、906、907））であり、これら試験に関する検討結果は以下のとおりである。

（注）化学物質のリスク評価検討会有害性評価小検討会発がん性評価ワーキンググループ

<対象となる試験>

○ラット肝中期発がん性試験（3物質、3試験）

- ・ 1-フェニルアミノ-4-イソプロピルアミノベンゼン（871） [要精査動物 1 匹]
- ・ m-クロロフェノール（880） [要精査動物 2 匹]
- ・ 5-クロロ-2-ニトロアニリン（927） [要精査動物 1 匹]

○遺伝子改変動物を用いた中期発がん性試験（1物質、3試験）

- ・ 4-(1, 1, 3, 3-テトラメチルブチル)フェノール（900、906、907）
[要精査動物は 900 で 1 匹、906 及び 907 で各 6 匹]

なお、各試験において使用する動物数は以下のとおりである。

- ・ ラット肝中期発がん性試験
被験物質の投与量が異なる 4 群でそれぞれ 22 匹の計 88 匹
- ・ 遺伝子改変動物を用いた中期発がん性試験
被験物質の投与量が異なる 4 群でそれぞれ 25 匹の計 100 匹

<検討結果>

○ 要精査動物を試験結果から除外した上で試験結果を再集計したところ、

- ・ ラット肝中期発がん性試験については、要精査動物を除外しても有効匹数 15 匹以上の条件は満たされており、また、試験結果の評価基準である GST-P 陽性細胞巢の単位面積当たりの個数及び面積のほか、肝臓重量について、要精査動物の除外前と除外後で試験結果を比較したところ、3 試験のいずれにおいても、一部の数値について違いはあったものの GST-P 陽性細胞巢の個数及び面積に係る検定結果に違いはみられなかった。
- ・ 遺伝子改変動物を用いた中期発がん性試験については、要精査動物の除外前と除外後で試験結果を比較したところ、腫瘍発生数に係る検定結果に違いはみられなかった。

○ 以上を踏まえ、上記の 4 物質を対象とした 6 試験については、試験結果をもとにした当該物質に係る発がん性の評価について、これまでの評価を変更する必要はないものと考えられる。

さらには、仮に、要注意動物観察記録のない動物数匹に数日程度投与されていない試験があったとしても、ラット肝中期発がん性試験における影響は限定的であると考えられ、また、遺伝子改変動物を用いた中期発がん性試験については陽性の評価であることに鑑み、これまでの評価を変更する必要はないものと考えられる。

従って、当該試験について再試験を行う必要はなく、また、当該物質にかかる規制への影響はないものと考えられる。

- ② 発がん性評価WGにおいて試験結果の評価が未実施の試験（要精査動物が存在しない試験を除く 3 物質、6 試験）

発がん性評価WGにおいて試験結果の評価が未実施の試験（4 物質、10 試験）のうち、要精査動物が存在した試験は 2 物質を対象とした 4 試験（ラット肝中期発がん性試験 1 試験（試験番号 940）、遺伝子改変動物を用いた中期発がん性試験 3 試験（試験番号 912、913、924））である。また、病理組織診断中のため要精査動物の存在が不明な試験が 1 物質を対象とした 2 試験（遺伝子改変動物を用いた中期発がん性試験（試験番号 933、934））ある。これら試験に関する検討結果は以下のとおりである。

<対象となる試験>

- ラット肝中期発がん性試験（1 物質、1 試験）
 - ・ 3, 5, 5-トリメチルヘキサ酸（940） [要精査動物 3 匹]
- 遺伝子改変動物を用いた中期発がん性試験（2 物質、5 試験）
 - ・ 1, 3, 5-トリス(2, 3-エポキシプロピル)ヘキサヒドロ-1, 3, 5-トリアジン-2, 4, 6-トリオン（912、913、924） [要精査動物は 912 及び 913 で各 1 匹、924 で 2 匹]
 - ・ 2-クロロベンゾイルクロリド（933、934） [病理組織診断中のため要精査動物は現時点で不明]

<検討結果>

- 試験報告書が提出済みである 1 物質の 3 試験及び試験報告書が未提出であるが要精査動物が判明している 1 物質の 1 試験においては要精査動物数はそれぞれ 1～3 匹と限定的であった。

また、現在病理組織診断中の試験については、今後試験結果をもとに、腫瘍の発生状況を踏まえ要精査動物の整理が必要である。
- 今後、試験結果の評価を行うに当たっては、①の試験における要精査動物の取扱いの考え方を踏まえ試験結果を精査した上で、発がん性評価WGにおいて、適切に評価がなされるべきである。

(参考) 検討会の参集者と開催状況

<参集者>

座長	大前 和幸	慶應義塾大学名誉教授
参集者	小野 敦	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科(薬学系)教授
参集者	平林 容子	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長
参集者	吉成 浩一	静岡県立大学薬学部薬学科(衛生分子毒性学分野)教授

<開催状況>

令和3年4月7日	第1回開催
令和3年6月22日	第2回開催
令和3年7月28日	第3回開催(持ち回り開催)

対象試験リスト

物質 No.	試験番号	化学物質	試験方法	実験動物	試験実施年度	試験結果 <報告書の結論>	発がん性WG での試験結 の評価	試験結果が 評価された 発がん性WG	備考
1	870	4-(1, 1, 3, 3-テトラメチルブチル)フェノール	ラット肝中期発がん性試験	ラット(♂)	2015	陰性	陰性	H28年度 第1回	
	900		遺伝子改変動物を用いた 中期発がん性試験	rasH2マウス(♂)	2017~2018	some evidence	陽性	R2年度 第1回	
	901			rasH2マウス(♀)	2017~2018	no evidence			
	906			p53K0マウス(♂)	2017~2019	no evidence			
	907			p53K0マウス(♀)	2017~2019	no evidence			
2	871	1-フェニルアミノ-4-イソプロピルアミノベンゼン	ラット肝中期発がん性試験	ラット(♂)	2015	陽性	陽性	H28年度 第1回	
3	879	p-トルエンスルホン酸メチル	ラット肝中期発がん性試験	ラット(♂)	2016	陰性	陰性	H28年度 第3回	
4	880	m-クロロフェノール	ラット肝中期発がん性試験	ラット(♂)	2016	陰性	陰性	H28年度 第3回	
5	898	1, 3, 5-トリス (2, 3-エポキシプロピル) ヘキサヒドロ- 1, 3, 5-トリアジン-2, 4, 6-トリオン	ラット肝中期発がん性試験	ラット(♂)	2017	陰性	陰性	H29年度 第1回	
	912		遺伝子改変動物を用いた 中期発がん性試験	rasH2マウス(♂)	2018~2019	clear evidence	—	(未実施)	試験報告書提出済み
	913		rasH2マウス(♀)	2018~2019	clear evidence	試験報告書提出済み			
	923		p53K0マウス(♂)	2018~2020	clear evidence	試験報告書提出済み			
	924		p53K0マウス(♀)	2018~2020	clear evidence	試験報告書提出済み			
6	899	カルシウム=ジホルマート	ラット肝中期発がん性試験	ラット(♂)	2017	陰性	陰性	H29年度 第1回	
7	910	4-アミノフェノール	ラット肝中期発がん性試験	ラット(♂)	2018	陰性	陰性	H30年度 第2回	
8	911	o-ニトロアニリン	ラット肝中期発がん性試験	ラット(♂)	2018	陰性	陰性	H30年度 第2回	
9	927	5-クロロ-2-ニトロアニリン	ラット肝中期発がん性試験	ラット(♂)	2019	陰性	陰性	R元年度 第3回	
10	928	酢酸亜鉛 (II)	ラット肝中期発がん性試験	ラット(♂)	2019	陰性	陰性	R元年度 第3回	
11	940	3, 5, 5-トリメチルヘキサン酸	ラット肝中期発がん性試験	ラット(♂)	2020	—	—	(未実施)	試験報告書未提出
12	941	炭酸ジフェニル	ラット肝中期発がん性試験	ラット(♂)	2020	—	—	(未実施)	試験報告書未提出
13	933	2-クロロベンゾイルクロリド	遺伝子改変動物を用いた 中期発がん性試験	rasH2マウス(♂)	2019~2021	—	—	(未実施)	試験報告書未提出
	934			rasH2マウス(♀)	2019~2021				試験報告書未提出
	942			p53K0マウス(♂)	2020				試験報告書未提出
	943			p53K0マウス(♀)	2020				試験報告書未提出

対象試験リスト（続き）

物質 No.	試験番号	化学物質	試験方法	試験動物総数	要注意動物観察記録に 記録されていた動物数				投与期間中に死亡等した動物数				要精査動物数				
					溶媒 対照群	低用量 投与群	中用量 投与群	高用量 投与群	溶媒 対照群	低用量 投与群	中用量 投与群	高用量 投与群	溶媒 対照群	低用量 投与群	中用量 投与群	高用量 投与群	
1	870	4-(1,1,3,3-テトラメチルブチル)フェノール	ラット肝中期発がん性試験	88				1				1					
	900		遺伝子改変動物を用いた 中期発がん性試験	100	1							1					
	901			100		1		1		1		1					
	906			100		1	1	5		1	1	5		1	5		
	907			100				7				7			6		
2	871	1-フェニルアミノ-4-イソプロピルアミノベンゼン	ラット肝中期発がん性試験	88				2				1			1		
3	879	p-トルエンスルホン酸メチル	ラット肝中期発がん性試験	88				1				1					
4	880	m-クロロフェノール	ラット肝中期発がん性試験	88			1	2			1				2		
5	898	1,3,5-トリス(2,3-エポキシプロピル)ヘキサヒドロ- 1,3,5-トリアジン-2,4,6-トリオン	ラット肝中期発がん性試験	88													
	912		遺伝子改変動物を用いた 中期発がん性試験	100	1			1	1			1	1				
	913			100		1		2		1		2	1				
	923			100			4	17			4	17					
	924			100		1	5	16		1	4	16		1	1		
6	899	カルシウム=ジホルマート	ラット肝中期発がん性試験	88													
7	910	4-アミノフェノール	ラット肝中期発がん性試験	88													
8	911	o-ニトロアニリン	ラット肝中期発がん性試験	88													
9	927	5-クロロ-2-ニトロアニリン	ラット肝中期発がん性試験	88	1			1	1						1		
10	928	酢酸亜鉛(II)	ラット肝中期発がん性試験	88													
11	940	3,5,5-トリメチルヘキサン酸	ラット肝中期発がん性試験	88				5							3		
12	941	炭酸ジフェニル	ラット肝中期発がん性試験	88			1				1						
13	933	2-クロロベンゾイルクロリド	遺伝子改変動物を用いた 中期発がん性試験	100				5					3	病理組織診断中のため不明			
	934			100	1	2	1	3	1	2	1	2					
	942			100													
	943			100													

※要精査動物数とは、ラット肝中期発がん性試験においては、「『要注意動物観察記録』に動物の状態変化の記録がある動物のうち、試験期間中に死亡等せず、最終的な評価対象となっていた動物の数」。遺伝子改変動物を用いた中期発がん性試験においては、「『要注意動物観察記録』に動物の状態変化の記録がある動物のうち、腫瘍が発生していない動物の数」。(2-クロロベンゾイルクロリドについては病理組織診断中で腫瘍発生状況が明らかになっていないため現段階で不明)