

# ImmunoTox Letter

日本免疫毒性学会：The Japanese Society of Immunotoxicology Vol. 8 No. 1 (通巻15号) 2003

## 目次

第9回日本免疫毒性学会を開催して .....	1
第10回日本免疫毒性学会学術大会(予告2) ...	1
第9回日本免疫毒性学会座長のまとめ(追加)...	3
医薬品に関する免疫毒性試験ガイダンス(案) について .....	3
国立医薬品食品衛生研究所 機能生化学部 澤田純一他	
医薬品の免疫毒性試験の国際調和ガイドライン 作成のためのICH免疫毒性データ調査.....	8
塩野義製薬株式会社新薬研究所 中村和司	
Society of Toxicology 42 <sup>nd</sup> Annual Meeting参加記 ...	9
独立行政法人国立環境研究所 環境健康研究領域 伊藤智彦	
ドイツ研究室訪問記 .....	10
川崎医療福祉大学 医療福祉環境デザイン学科 植木絢子	

## 第9回日本免疫毒性学会を開催して

本学会は1994年に免疫毒性研究会として発足し、さらに昨年からは新たに学会として再出発しておりますが、年々盛会を重ねて今回で第9回目となりました。今大会は静岡に皆様をお迎えし、静岡・グランシップを会場にして平成14年9月19日(木)、20日(金)に開催されました。今大会は2日間を丸々使った欲張ったプログラムとなりましたが、特別演題として特別講演2題、教育講演2題、シンポジウム4題、ワークショップ4題、ランチセミナー2題の計14題、一般演題として口演発表14題、ポスター・口演発表9題の計23題となりました。

今大会では1)「免疫の病的老化」 環境因子による粘膜免疫および胸腺免疫の病的老化、2)「保健機能食品と免疫 その有用性と安全性」3)「環境化学物質の免疫系からみた安全性評価」の3つを主要テーマとして、特別講演 では名倉宏先生(東北大医・名誉教授・病理)をお招きして「侵襲抗原による粘膜免疫担当組織の障害」について、特別講演 では清野宏先生(東大・医科研・炎症免疫)をお招きして「粘膜免疫のダイナミズム」についてそれぞれ最先端の示唆に富んだお話を拝聴することができました。また教育講演 では上野川修一先生(東大・院・農学生命科学)をお招きして「機能性食品と免疫」について、教育講演 では和田攻先生

## 第10回日本免疫毒性学会学術大会(予告2)

第10回日本免疫毒性学会学術大会を下記の要領で開催いたしますのでご案内申し上げます。

日時：平成15年9月25日(木)~26日(金)

会場：グリーンホール相模大野(相模原市文化会館)  
神奈川県相模原市相模大野4-4-1(〒228-0803)  
TEL: 042-749-2200, FAX: 042-749-2772

協賛：日本トキシコロジー学会

サブテーマ：「免疫毒性研究10年  
免疫毒性研究の新たな展開」

### プログラム：

特別講演「遺伝要因と環境要因の相互作用：

アレルギー疾患をモデルに」

白川太郎 京都大学大学院医学研究科教授

記念シンポジウム「免疫毒性研究の進展と課題」

基調講演 大沢基保 日本免疫毒性学会会長

シンポジウム 「化学物質過敏症」

「バイオ医薬品の毒性評価と副作用」

ワークショップ「医薬品に関する免疫毒性評価法の国際調和」、「抗原性試験の課題」

一般演題：口頭またはポスター発表、口頭発表は一演題当たり発表時間10分、討論時間5分

演題講演要旨申込締切：7月31日(木)

申込先：<http://www.shoyaku.ac.jp/j-home/eisei/JSIT2003>  
(不具合が生じた時は、[eisei@ac.shoyaku.ac.jp](mailto:eisei@ac.shoyaku.ac.jp)までご連絡下さい)

事前登録参加申込締切：8月31日(日)

会員5,000円、非会員8,000円(当日各2,000円増)

懇親会：9月25日(木) 18:10~19:50

事前会費5,000円(当日7,000円)

詳細は上記のホームページをご覧ください

### 第10回日本免疫毒性学会学術大会事務局

東京都町田市東玉川学園3-3165(〒194-8543)

昭和薬科大学衛生化学研究室内 大会会長 北條博史

Tel & Fax: 042-721-1563

E-mail: [hojo@ac.shoyaku.ac.jp](mailto:hojo@ac.shoyaku.ac.jp)

(埼玉医大、東大医・名誉教授・衛生)をお招きして「微量環境化学物質の免疫系からみたリスク評価」とくにダイオキシンを中心として」についてそれぞれ含蓄のある示唆に富んだお話を拝聴することができました。また、会長講演では「環境因子による胸腺免疫の病的老化」と題して荒川泰昭(静岡県立大学・公衆衛生・生体衛生)が担当させていただきました。また、シンポジウム「環境・化学物質・免疫毒性」では4先生方をお招きして、櫻井照明先生(東京薬大)にはヒ素について、野原恵子先生(国立環境研)にはダイオキシンについて、別役智子先生(北大医・一内)には喫煙について、藤巻秀和先生(国立環境研)にはディーゼル排気についてそれぞれ先端の研究を解かりやすく解説していただきました。また、従来継続しておりますワークショップでは「医薬品の免疫毒性評価の進め方、考え方」をテーマに中村和市先生(塩野義製薬)、澤田純一先生(国立衛研)、中澤隆弘先生(日本イーライリリー)、小林孝好先生(アムジェン)にそれぞれ最新の情報や問題提起をまじえたご講演をしていただきました。さらに今回はランチョンセミナー2題を持つ事ができました。ランチョンセミナーではハンチンドン・ライフサイエンス(株)(英国)のお世話でマーク・ウイングMark Wing博士(英国)をお招きして“Regulatory immunotoxicology and immunopharmacology in non-clinical drug development”について、またランチョンセミナーではシベルヘグナー(株)(スイス)のお世話でアルブレヒト・ポスAlbrecht Poth博士(ドイツ)をお招きして“Routine immunotoxicity testing of pharmaceuticals: Lessons from the first two years”について講演していただきました。一般演題においても発展の跡が窺えるレベルの高いものばかりでした。今大会よ

り優秀な研究に会長賞を、発展を期待したい研究に奨励賞を授与することにいたしました。会長賞には坂部貢先生(北里研・臨床環境医学センター)グループの「微量環境化学物質と胸腺の微細構造 フタル酸エステル類を中心として」が、また奨励賞には二瓶萩尾先生(日大・生物資源科学)グループの「ギンブナの細胞性免疫に及ぼす環境ホルモンの影響」が受賞されました。以上のように、お蔭様で、大変内容のあるレベルの高い会となり、会員の皆様におかれましても大変収穫の多い会になったのではないかと拝察している次第です。

本学会の趣意は疾病予防、健康の保持・増進のための健康阻害要因の検索、分析、認知、作用機序解析、毒性評価、対策、生体機能の保持・増進、さらに疾病における診断、治療などの領域において、免疫修飾、免疫機能障害、免疫疾患と医療、免疫老化、胸腺免疫、腸管免疫、免疫制御、免疫寛容、免疫における有効性と毒性ならびに安全性、免疫毒性評価など、健康阻害要因を免疫毒性学的見地から科学的に究明し、健康の維持、増進に寄与することを目的とする学術集会であると考えます。このような「免疫毒性学」なる研究ならびに学問の必要性は以前より叫ばれ、そうした研究も個々においては成されていきましたが、このように学会としてお互いに啓発し合えるようになったことは大きな力であり、この分野の発展に益々貢献できるものと確信いたします。今日の健康ブームの中で、そしてまた「前向き対策」が肝心である予防医学の領域において、医薬品から食品、環境化学物質に至るまで、免疫毒性学的なアセスメントの必要性は国の内外を問わず性急に高まっております。それだけに、本学会の果たす役割は大きく、その存在価値は今後益々高まってくるものと思われまます。本学会の益々の発展を



第9回日本免疫毒性学会 平成14年9月19日 於グランシップ

祈念する次第です。

今大会は将来の学会発展を想定して、開催事業の運営形態においても幾つか新規のものを取り入れてみました。すなわち、オンライン演題登録システムを確立し、演題登録をオンライン化したしました。また、演題発表では十分にディスカッションできるようにポスターセッションを設けました。また、講演抄録集も体裁を改め変形A4版に大型化したしました。さらにまた、今大会より優秀な研究に会長賞を、発展を期待したい研究に奨励賞を授与することにいたしました。本学会の益々の活性化に繋がればと祈念しております。

最後に、学会開催に当りまして、絶大なるご協力を賜りました特別講演、教育講演、シンポジウム、ワークショップ招待講演の先生方はじめ会の運営にご助力いただきました役員や実行委員の方々、そしてご発表や討論に活発にご参加いただきました会員の皆様方、また本学会の趣意にご賛同いただき、ご支援を賜りました団体企業の皆様方に心から御礼を申し上げます。

第9回 日本免疫毒性学会大会会長

荒川 泰昭

## 座長のまとめ（追加）

座長：吉田貴彦（旭川医科大学）

PP-7 海洋深層水中のマクロファージ活性化に影響する有機物質の性状と分布

近年の健康ブームにのり海洋深層水（水深200m以深の海水）の利用が盛んであるが、その有効性や安全性に関する情報が不足していた。本報告では駿河湾から採取された海洋深層水中の溶存有機物がマクロファージ活性化作用を有するLPSであること、その性状が糖鎖が短く0多糖を殆ど持たないコア糖鎖とLipid Aの基本構造に近いものであることを明らかとした。海洋深層水の利用に関する安全配慮と有効利用への糸口となる興味のある知見であった。

PP-8 T細胞活性化および分化に対するダイオキシンの抑制効果

ダイオキシンを経口投与したC57BL/6N雌性マウスをOVAにて免疫した後、血清中OVA特異的IgG1測定、脾細胞CD3+T細胞比率、脾細胞培養上清のサイトカイン類測定などを行った。また、曝露群および対照群のT細胞、非T細胞を再構成した培養系を用いてダイオキシンの標的細胞を特定した。その結果、ダイオキシンが一次免疫

反応のT細胞活性および分化の抑制を経て、Th2細胞由来サイトカイン産生を抑制し抗体産生応答が低下することが見出されダイオキシンによる免疫毒性機序の一端が解明された。

PP-9 食物アレルギー誘発試験の一環としてのin vitro分解性試験

人工胃液を用いた蛋白の分解性試験法の国際validation試験に参画して食事由来の蛋白質の分解性を検討した研究である。9種類の蛋白質について、人工胃液、人工腸液による分解性をSDS-PAGE後の蛋白染色にて評価した。その結果、陰性対照としての酵素類が易分解であったのに対して、食物アレルギーとして知られるものでは難分解であることが判明した。また、過熱前処理にて分解の促進されるものもある一方、抵抗性を示すものもあった。食物アレルギー試験の一環として人工消化液を用いる試験の有用性が示された。

## 医薬品に関する免疫毒性試験 ガイダンス（案）について

澤田 純一（国立衛研・機能生化学部）

大沢 基保（帝京大学・薬学部）

今井 俊夫（国立衛研・病理部）

手島 玲子（国立衛研・機能生化学部）

中村 和市（塩野義製薬・新薬研究所）

筒井 尚久（三菱ウェルファーマ・安全性研究所）

久田 茂（帝国臓器製薬・安全性研究部）

牧 栄二（ヤンセンファーマ・研究開発本部）

前回の報告で述べたように、EUでは既に、全ての新規医薬品に関して、免疫毒性試験項目を反復投与毒性試験に追加して行うガイダンスが制定されている。米国においても、免疫毒性に関するガイダンスが最終化された。日本においては、医薬安全総合研究「国際的動向を踏まえた医薬品等の新たな有効性及び安全性の評価に関する研究」の分担研究の一つである「免疫毒性試験法の標準化に関する調査研究」班において、免疫毒性試験法ガイダンス案を作成した。この間、ICHにおいて、免疫毒性試験のトピック化に関する議論がなされたため、研究班において作成された中間案を参考資料として提示したことは、前回報告したとおりである。中間案では、反復投

与毒性試験の結果により、段階的な免疫毒性試験を追加して行うこととし、異常が認められた場合には、第一段階の免疫毒性試験（抗体産生試験）を行う。そこで、異常がある場合には、さらに、詳細な第二段階の免疫毒性試験を行い、その免疫異常の原因等を明らかにすることが必要とされる。その後、当研究班では寄せられたコメント等を検討し、研究班としての最終案を作成した。最終案では、中間案に「前文」の追加を行い、一部の字句等の修正を行った。

今後、本ガイダンス（案）は、引き続き、ICHの討議の場で日本案として取り扱われることとなる。日本における免疫毒性ガイダンスの最終化は、ICHでの検討の進行状況を考慮して決定されるものと予想される。

以下に、ガイダンス（案）の全文を掲載した。

### 免疫毒性試験ガイダンス（案）

本ガイダンスは、医薬品の安全性の適正な評価に資するために、医薬品の承認申請等のために行われる免疫毒性試験の標準的な実施方法を示したものである。しかし、全ての医薬品について、一律の免疫毒性試験を行うことは合理的ではない場合もあり、対象とされる医薬品の特性に応じて、最適な試験法を用いることが重要である。

#### [ 背 景 ]

免疫系は、細菌やウイルス等の外来の病原体や体内に発生した癌細胞の除去を行う等、生体の恒常性維持に重要な役割を果たしている。免疫機能の低下が、日和見感染や腫瘍の発症を招きやすいことは、先天性免疫不全症や後天性免疫不全症候群（AIDS）の例で、よく知られている。免疫系への有害作用（免疫毒性）が他の毒性と異なる点は、それ自身が直接投薬患者の生存そのものを脅かすというよりも、外来性病原体の侵襲や内在性癌細胞

の発生により、初めてその有害性が明示される点である。医薬品の承認申請に係る非臨床の免疫毒性試験に関しては、その必要性が指摘されていたものの、免疫系を構成する細胞群及びそれらの相互作用が複雑であること、免疫機能の評価項目が非常に多岐にわたること、マウス以外の試験動物、特に、通常の毒性試験で用いられるラットにおける免疫機能試験法の評価が充分に行われていなかったこと等の事情もあり、その設定等が遅れていた。しかし、ここ10年の間に、国際的な共同研究も含めて免疫毒性試験法の評価も進み、ラットを用いる免疫毒性試験法に関しても、十分に実用に耐える段階に至っている。

本ガイダンスでは、免疫毒性を有する多くの化学物質が反復投与毒性試験の免疫毒性関連検査項目において異常を示すことを利用し、原則として、反復投与毒性試験の結果に基づき免疫毒性が疑われる場合に、さらに免疫毒性試験を行うこととした。

#### [ 本ガイダンスの適用範囲及び対象薬物 ]

免疫毒性には、免疫機能抑制、アレルギー、自己免疫、及びその他の免疫機能異常亢進が含まれるが、本ガイダンスでは、被験薬物に特異的な免疫反応（薬物アレルギー及び薬物特異的自己免疫）は対象としない（注1）。

表1のいずれかに該当する場合には、本ガイダンスに基づき、免疫毒性試験を実施すること。なお、生物製剤及びバイオテクノロジー応用医薬品に関しては、本ガイダンスの対象としない。

#### [ 本ガイダンスの目的 ]

薬物の免疫毒性の検出及びその性質の検討を効率的に行うためには、予想される免疫毒性に応じた最適な試験法の選択及びプロトコールの設定が必要とされる。本ガ

表1 本ガイダンスの免疫毒性試験の対象とされる薬物

1. 次の(1)から(3)までのいずれかにより、被験薬物の免疫毒性が疑われる場合
  - (1) その薬物の反復投与毒性試験又はその他の毒性試験の結果
  - (2) 免疫毒性を示す既知の薬物との化学構造の類似性
  - (3) その他の知見
2. 被験薬物の臨床適応が、次の(1)から(2)に該当する場合（注1）
  - (1) 免疫不全症
  - (2) 免疫抑制作用を有する薬剤（注2）との併用

（注1）合理的な理由がある場合には、試験対象から除くことができる。

（注2）免疫抑制剤、抗癌剤、抗アレルギー剤、ステロイド剤等の中で免疫抑制作用を有する薬剤を指す。

イダグスの目的は、非臨床免疫毒性試験を行う際に参考とすべき手順及び検査項目の選択基準を示すことである。

本ガイダンスにおいては、免疫毒性を検出する試験として、従来より用いられている反復投与毒性試験に加えて、第1段階免疫毒性試験（第1段階試験）及び第2段階免疫毒性試験（第2段階試験）を設けた。反復投与毒性試験に含まれる免疫毒性関連の検査項目及び第1段階試験の主な目的は、免疫系に対する直接又は間接の毒性を示す薬物のスクリーニングである。第1段階試験においては、同時に体液性免疫への影響を知ることが可能とされる。また、第2段階試験の目的は示された免疫毒性を質的及び量的に明らかにすることである。

なお、免疫毒性試験の実施方法に関しては、技術的な進歩も速く、本ガイダンスに記載された試験法よりも優れた方法が開発されることが予想される。試験の実施に当たっては、本ガイダンスを参照すると同時に、常に最新の技術を取り込み、検査法の改良に努めることが望まれる。

#### [ 検査項目の選択 ]

本ガイダンスで示された検査項目は、最小限必要と考えられるものであり、被験薬物の性質に応じて、適宜、検査項目を追加することも考慮すべきである。

反復投与毒性試験における免疫毒性関連検査項目は、器官重量、血液検査（血液学的検査及び血液化学的検査）及び病理組織学的検査の中の免疫系に関連する項目である。また、反復投与毒性試験において、末梢血のリンパ球サブセット検査又は脾臓の免疫組織化学的検査の項目を追加して行うことが勧められる（表2- ）。反復投与毒性試験の免疫毒性関連検査または追加の検査により異常が認められた場合（注2）には、免疫毒性試験を実施する。

免疫毒性試験は、2段階に分けて行われる。第1段階試験では、抗体産生の検査及び脾臓及び胸腺の器官重量測定等の検査（表2- ）を実施する。NK細胞活性の検査を第1段階試験に、追加してもよい。

第1段階試験で異常が認められない場合には、第2段階試験を行う必要はない。第1段階試験により異常が認められる場合には、反復投与毒性試験の結果も考慮にいれ、適切な検査項目（表2- ）を含む第2段階試験を実施する。第2段階試験においては、示された免疫毒性の性質を明らかにすることが必要とされるが、特に影響を受ける細胞または免疫機能の同定と影響の強さを明らかにすることが重要である。

反復投与毒性試験において明確な免疫毒性が認めら

れ、且つ、その毒性の性質から第1段階試験を行う必要性が低いと判断される場合（注3）には、第2段階試験を直接行ってもよい。

必要に応じ、免疫毒性の可逆性を検討するため、異常が認められた項目について、回復性試験を行う。

#### [ 試験実施の時期 ]

第1段階試験は、通常反復投与毒性試験の後に行われるが、可能であれば、反復投与毒性試験と同時に行うことができる。第1段階試験は、原則として、臨床試験開始以前に行う。第2段階試験は、その必要に応じて、適切な時期に行う。

#### [ 試験プロトコール ]

第1段階試験プロトコールは、以下の条件に従う。第2段階試験が必要とされる場合には、その目的に最も適したプロトコールを設定する。

1. 動物種、性及び週齢：反復投与毒性試験の免疫毒性関連検査または追加の検査により異常が認められた動物と同一の種、系統、性及び週齢を用いることが望ましい（注4）。反復投与毒性試験において雌雄差が認められなかった場合、雌雄いずれか一方の動物を用いることができる（注5）。
2. 動物数：1群8匹以上とし、統計学上十分な数の動物数を設定する。各群への割り付けには、適切な無作為抽出法を用いる。
3. 投与経路：原則として、臨床適用経路とする。
4. 用量段階：原則として、3段階以上の投与群を設け、別に対照群を置く。反復投与毒性試験の免疫毒性関連検査又は追加の検査により異常が認められた用量を参考に、用量段階を設定する（注6）。
5. 対照群：溶媒のみを投与する陰性対照群を置く。必要に応じて、無投与対照群（注7）又は陽性対照群（注8）を加えることを考慮する。
6. 投与期間：原則として、反復投与毒性試験に準ずる投与期間を採用する。投与は原則として週7日とする。
7. 観察等：一般状態の観察及び体重測定を行う。

#### [ 免疫毒性関連検査項目 ]

反復投与毒性試験及び免疫毒性試験において対象とされる免疫毒性関連検査項目を表2にまとめて示した。これらの検査項目より、被験薬物の性質及び試験の目的に応じて、必要な項目を選択し、適切な試験プロトコール<sup>1)</sup>を設定すること。

表2 免疫毒性関連検査項目

・反復投与毒性試験における検査項目

1. 一般状態、体重
2. 血液学的検査：免疫毒性関連検査としては、血球数、白血球型別百分率が必要とされる。
3. 血液化学的検査：免疫毒性関連検査としては、アルブミン/グロブリン (A/G) 比が必要とされる。
4. 器官重量：免疫毒性関連検査としては、脾臓、胸腺、副腎の重量測定が必要とされる。
5. 病理組織学的検査：免疫毒性関連検査としては、脾臓、胸腺、リンパ節、骨髄、腸管（パイエル板を含む）、肝臓、腎臓、副腎、皮膚の検査が必要とされる。
6. 末梢血のリンパ球サブセット検査又は脾臓の免疫組織化学的検査を追加して行うことが望ましい。

・第1段階の免疫毒性試験における検査項目

1. 抗体産生：投与期間中の適切な時期に、ヒツジ赤血球等のTリンパ球依存性抗原により免疫する。ヒツジ赤血球を免疫原として用いる場合には、PFC (plaque-forming cell) アッセイでは、4日前に、血清抗体価測定では、6から7日前に免疫を行う。ヒツジ赤血球による免疫は、静脈内投与により行う。PFCアッセイの場合には、被験薬物最終投与の翌日に、動物毎に脾臓細胞を調製し、ブラクアッセイを行う。血清抗体価測定の場合には、被験薬物最終投与の翌日に血液を動物毎に採取し、血清を調製し、測定時まで（必要に応じて凍結）保存する。抗体価測定は、酵素免疫測定法（ELISA）により行うことが望ましい。
2. 抗体産生検査に用いた試験動物について、一般状態、体重、脾臓重量、胸腺重量、及びその他特に必要とされる項目の検査を行う。
3. 必要に応じて、NK細胞活性の検査を行ってもよい。NK細胞活性の検査を行うためには、抗体産生の検査とは別に、投与群及び対照群を設定する必要がある。被験薬物最終投与の翌日に、脾臓細胞を調製し、適切な標的細胞を用いてアッセイを行う。

・第2段階の免疫毒性試験における検査項目

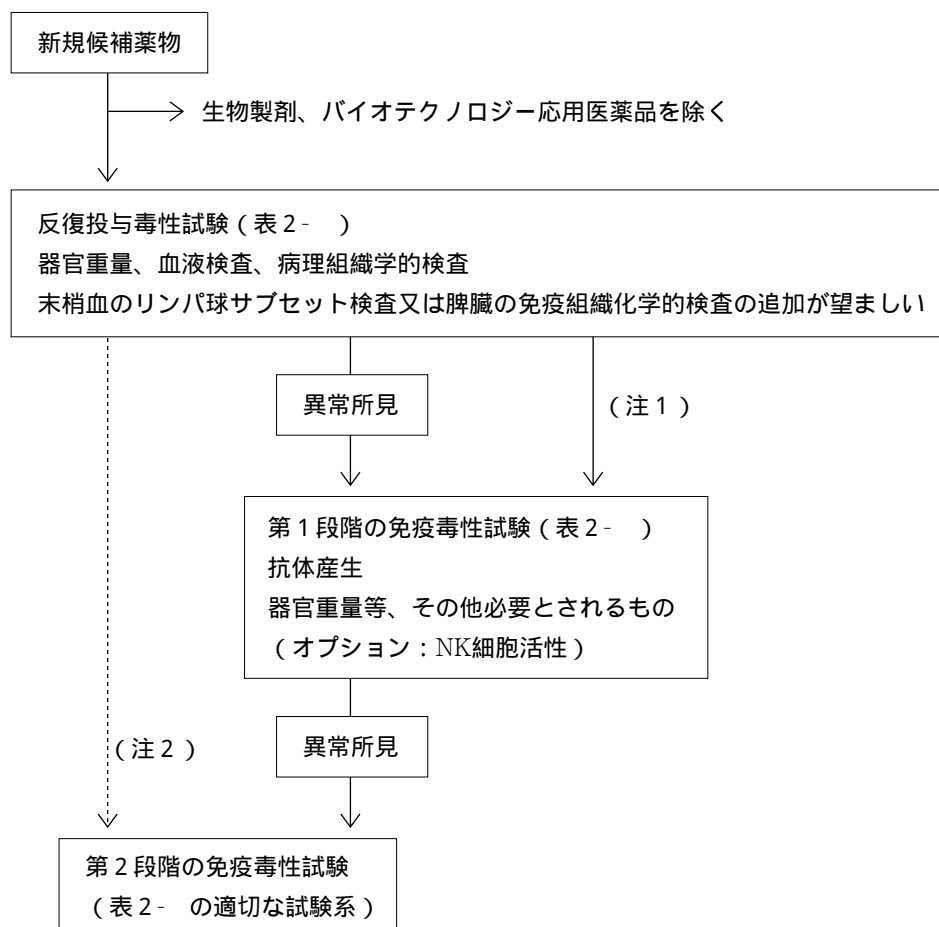
1. 骨髄細胞の型別百分率：大腿骨を用いて行う。
2. リンパ球サブセット検査：末梢血または脾臓のBリンパ球、Tリンパ球、Tリンパ球サブセット、NK細胞を、適切な表面マーカー等に対する特異的抗体を用いて計数し、その構成比を求める。フローサイトメトリーにより検査を行ってもよい。
3. 血液化学的検査：血清タンパク質の電気泳動を行う。
4. 免疫グロブリンクラス検査：投与終了後の翌日に血液を採取し、血清を調製し、（必要に応じて凍結）保存する。ELISA等により、血清の免疫グロブリンクラス（IgM、IgG、IgA、IgE）のレベルの測定を行う。
5. 免疫組織化学的検査：リンパ系組織、腎臓（免疫複合体沈着）、皮膚等の免疫組織化学染色を行う。
6. 免疫機能検査：
  - (1) 抗体産生：上述。
  - (2) NK細胞活性：上述。
  - (3) その他の免疫機能検査：マイトゲン等によるリンパ球増殖反応、細胞障害性T細胞活性、血清補体価、サイトカイン産生、マクロファージ又は多型核白血球の貪食活性、遅延型アレルギー反応（注1）、宿主抵抗性、膝窩リンパ節反応（注1、注2）、即時型アレルギー反応（注1）、自己抗体、尿タンパク、及びその他の検査を適宜追加する。

（注1）これらのアレルギー反応を指標に用いて、その抑制または亢進を検討する。

（注2）自己免疫の誘発活性の指標として用いる場合もある。

## 免疫毒性試験のフローチャート

(説明用に概略を記した参考資料であり、正確には、ガイダンス本文を参照すること)



(注1) 表1第1項(1)を除き、表1に該当する薬物

(注2) 反復投与毒性試験の免疫毒性関連検査または追加の検査で明確な異常が認められ、且つ抗体産生試験を行う必要性が低いと判断される場合には、第2段階試験を直接行ってもよい。

## (注)

注1：遅延型の薬物アレルギーに関しては、皮膚感受性試験のガイドラインが既に設定されているが、即時型薬物アレルギーのよい予知試験法は、現在のところ未確立である。

注2：表1の第1項(1)において免疫毒性が疑われる場合を指す。免疫毒性関連検査における異常とは、当該検査において投与群と陰性対象群の間に統計学的に有意の相違が認められることを指すが、試験動物における基準値等の範囲及び変動を考慮する。

注3：例えば、末梢血の好中球の減少のみ認められ、そ

の他の異常が認められない場合等を指す。

注4：通常、ラットまたはマウスを用いる。

注5：同一ケージで複数の雄性動物を飼育する場合には、闘争等の飼育上の問題が生じないように、ケージの大きさ等を考慮するべきである。

注6：高用量群に用いる用量は、対照群と比較して体重抑制が10%以上でない用量とする。高用量群で十分な異常が認められ、低用量群で異常が認められないように用量を設定し、用量反応関係が得られることが望ましい。高用量群における異常の変化が小さく、明らかに3段階の用量を用いる必要がない場合には、2段階の用量の投与群を用いても

よい。

注7：通常は必要とされないが、用いる溶媒が免疫毒性試験に影響を与える場合には、無投与対照群を設ける必要がある。

注8：陽性対照群を設ける目的は、検査手技の妥当性を評価することにある。別途、少数の動物を用いてシクロホスファミド等の陽性対照薬物の投与の影響をみる試験を行ってあれば省略してもよい。

#### 参考文献等：

- 1) 種々の試験法に関しては、Methods in Immunotoxicology Vols. 1 and 2 (ed. by Burlinson, G.R., et al.) (1995); Environmental Health Criteria 180. Principles and Methods for Assessing Direct Immunotoxicity Associated with Exposure to Chemicals. pp.164-225 (1996); ImmunoTox Letter (日本免疫毒性学会発行) に掲載の免疫毒性試験プロトコール等を参照すること。

### 医薬品の免疫毒性試験の 国際調和ガイドライン作成のための ICH免疫毒性データ調査

中村 和市 (塩野義製薬株式会社)

2002年2月7日のICH非公式免疫毒性専門家会議において、将来最終的にはICH国際調和ガイドラインを作成していくことが合意されたが、現行のガイダンス(あるいは案)の妥当性を評価するために、さらにデータを集めて解析することになった。本合意事項はICH運営委員会においても承認された。

これを受け、米国のある民間団体が医薬品の免疫毒性データに関する調査を企画するなか、日本製薬工業協会においても日本国内で調査を行う準備を始めた。しかし、その後日本製薬工業協会としては異なった質問による種々の調査を統合することの難しさなどを考慮しICHの枠内で統一した調査を提案する方針を固めた。そこで、久田 茂氏(帝国臓器製薬)を中心にチームを編成、調査票案を作成し、これを厚生労働省の「免疫毒性試験法の標準化に関する調査研究」班会議(分担研究責任者：澤田純一 国立衛研 機能生化学部長)においてご議論いただいた。また、欧・米の専門家にも送り意見を求め

た。調査票に関する免疫毒性専門家間の議論がほぼ終了するなか、日本製薬工業協会は厚生労働省と共同で2002年9月12日のICH運営委員会会議において「医薬品の免疫毒性試験の国際調和ガイドライン作成のためのICH免疫毒性データ調査」の提案を行った。会議では秘密保持(化合物の特定)に対する懸念が示されたが、まず欧州医薬品庁、米国食品医薬品庁、国立衛研が各地域の所属会社から免疫毒性データを受け取り会社情報を切り離したのち、さらに国立衛研で再度秘密保持の最終点検を受け解析にかかることで合意が得られた。そして、2003年2月5日のICH運営委員会会議において調査の実施が正式に承認され、2003年3月28日には調査票がICH事務局を通じてICH各極の団体に送付された。

医薬品の非臨床安全性評価においては、反復投与毒性試験で体重、相対臓器重量(胸腺、脾臓、リンパ節、副腎)、血液(白血球数、リンパ球数)、血清イムノグロブリン、病理組織(骨髄、胸腺、脾臓、リンパ節、パイエル板、皮膚、肝臓、腎臓、副腎)や一般状態が調べられている。最近では、EUの免疫毒性ガイダンスに沿い免疫組織化学やフローサイトメトリーによって、胸腺、脾臓、リンパ節あるいは末梢血中のリンパ球サブセットの分布が調べられる場合も多いと思われる。さらに特異抗体産生能、NK細胞活性、遅延型過敏症反応、宿主抵抗性などの免疫機能が検討されることもあるであろう。本調査においては、これらの数値データをかなり詳細に求め、まず反復投与毒性試験における所見とフローサイトメトリーや各種免疫機能検査の結果との相関性を調べ、医薬品の免疫毒性評価におけるフローサイトメトリーや各種免疫機能検査の位置付けを行う。さらに、化合物によっては、臨床試験の段階に進んだり、また医薬品として既に上市されているものもあると思われる。このような化合物あるいは医薬品については、人における免疫毒性についても問い、非臨床免疫毒性試験の予知性にまで踏み込もうと考えている。

2003年5月30日には調査票の回収を締め切り、2003年7月15日から18日までの日程でICH非公式免疫毒性専門家会議が開催され、回収された調査票の解析を開始する予定となっている。また、2003年11月12日から15日にかけて大阪で開催されるICH 6においては免疫毒性試験に関するワークショップが企画されており、本調査の進捗あるいは解析結果が報告される予定である。

大規模な国際的調査が実施されることになったが、まずは数多くのデータが集まることを期待したい。そして、本調査においてICH各極の免疫毒性専門家の中で科学的な議論がしっかりと成され、予知性が高く、かつ無駄の



ない評価手順の盛り込まれたICH国際調和免疫毒性試験ガイドラインが作成されることを願ってやまない。

## Society of Toxicology 42<sup>nd</sup> Annual Meeting参加記

伊藤 智彦 (独立行政法人国立環境研究所)

平成13年3月9日から13日までユタ州ソルトレイクシティで開催されたSociety of Toxicology (SOT) 42<sup>nd</sup> Annual Meetingに参加してきました。今回のSOT参加は私にとって国際学会はもとより海外に出ること自体も初めてとあって、アメリカに行く前から非常に緊張と不安で一杯でした。ましてや3月はイラクとの戦争が始まりかけていた時期でもあって、アメリカ入国はかなり大変であるとの噂を耳にし、一層不安になりました。私は英会話が苦手なので以前から取り組もうとは思ってはいたものの、なかなか忙しいことを理由に避けてきていました。実際に国際学会参加が決定し、練習せざるを得ない状況にあって始めたものの、やはりというか実験の方が多忙を極めたためになかなか思うようにはいきませんでした。英会話は継続的な日頃の練習が必要で、本腰を入れて取り組まなくてはいけないという、当たり前のことなのですが改めて身をもって実感しました。

今回、SOTの会場となったユタ州ソルトレイクシティは2002年の冬季オリンピック開催で知られた都市で、そのことからソルトレイクは寒いであろう、ましてや3

月だったことから相当寒いはずであると予想していたのですが、実際に到着してみると非常に暖かくて驚きました。日本の冬よりは格段に暖かく、5、6月ぐらいの陽気でした。半袖半ズボンで歩いている方も見受けられました。会場のコンベンショナルセンターのあるダウントウンは非常に小さく、歩いて全てを行き渡れる程度の大きさでした。またソルトレイクシティはモルモン教徒の地でもあり、非常に穏やかな都市でした。人口の約60%がモルモン教徒であるといわれ、ダウントウンの北にモルモン教の総本山、テンプルスクエアがあります。建物は荘厳であり、敷地内には博物館の様なものや、時間の都合上聴くことは出来ませんでした。コンサート会場もあり、とても興味深いものでした。

学会の方ですが、9日は演題発表がなかったのでホテルにチェックイン後、夕方からのwelcoming receptionに参加し、本格的な参加は10日からとなりました。今年のSOTでは現在の私のテーマであるダイオキシンの生体影響関連の演題は比較的大会後半に集まっていて、私のポスター演題がエントリーされたポスターセッション「TCDD&POPS」が最終日にあり43演題。同じく「TCDD &POPS」のプラットフォームが三日目にあり9演題。それ以外にもいくつかのセッションでダイオキシン関連の演題がありましたが、全体が約2000演題ということから考えると少ない印象がありました。また、時期が時期でもあるせいか、演題を取り消された研究者も結構いたようでした。大会前半は、自分が以前にテーマとしていた酸化ストレス関連や循環器系のプラットフォームがありましたので、興味あるということもありましたが、まずは慣れるということで参加しました。話している内容はスライドを見ればおおよそのことがわかるのですが、や



はアメリカ人の英語は速くて聞き取るのは困難でした。それに比べて中国人などのアジア系の方が話す英語は単語ごとにはっきりと発音してくれるので、私にとって非常にわかり易い英語でした。ポスター会場では質問をしましたが、文や単語が直ぐに出てこなく、紙に書いて相手に意思是伝えられたものの勉強不足をとにかく痛感しました。何とか自分の発表の日までに慣れようとしたのですが、慣れるというよりも疲労感の方が先行してきてしまった感じでした。

さてSOTも最終日となり、いよいよ私のポスター発表になりましたが、6人の研究者の方々が聞きにきてくれました。ダイオキシンの免疫毒性の分野で有名なOregon State UniversityのDr. KerkvlietやVirginia Commonwealth UniversityのDr. Nagarkatti、前日に食事に誘っていただいたNorthwestern Universityの奈良橋先生、また若手の研究者も来てくれました。結果としては内容についての比較的簡単な話は出来ましたが、詳細な話が出来ず色々な意見や情報を聞くことが出来なかった点については反省すべき今後の課題になりました。

学会終了後には、自治医科大学の香山先生や食品医薬品研究所の小西先生、国立環境研究所から参加した先生方と食事に行きました。アメリカの食事は私にとってあまり合わないものですが、ステーキは流石に美味しかったです。しかし、味付けされたライスはどうしても慣れずに日本のお米が恋しくなりました。あと日本人にとっては量が多すぎて、ホットコーヒーをSサイズで注文したら500ccも出てきて嘔然としてしまいました。

学会を終えて、初めての国際学会参加ということで苦い思いを多くしましたが、普段論文を読むことでしか知らない研究者の方々に実際に会って話をすることが出来たことは自分にとってとても貴重な経験となりました。このような経験は研究者としてだけでなく、それ以外の人生においても大きな経験となることでしょう。今後、行く機会がありましたら、なかなか思うようには行かないでしょうが、もっと余裕を持って参加し楽しみたいと思います。

最後にこの場をかりて、この度のSOT参加の機会の場を与えていただいた国立環境研究所の遠山先生および野原先生に感謝いたします。

## ドイツの研究室訪問記

植木 絢子

(川崎医療福祉大学 医療福祉環境デザイン学科)

### 1. まえがき

ドイツの研究室訪問記を書くようにと御下命を頂いたのは、2002年秋のことで、丁度古巣のミュンヘンに滞在していた時でした。かねてから尊敬を抱いていた環境医学の父とも言えるProf. Max von Pettenkoferの足跡を訪ねて、果ては弟子の1人である森鷗外の住んでいた辺りまでうろついていたところでした。ミュンヘン大学には、「医学史」と言う講座もあり(現教授はProf. Wolfgang G. Locher)、様々な研究者の生きた背景や研究の詳細が今もきちんと整理保存され、現代の研究を行う上での貴重なアイデアを提供し続けています。話が脱線していますが、免疫学の役割の大きさに関する事なので敢て脱線をお許しください。

19世紀のヨーロッパはまだコレラの流行に悩まされていましたが、Prof. Pettenkoferは早くから、患者の排泄物中に原因物質があると考えていました。しかし、流行時に同じ飲料水を使用しても発病しない人が沢山いることが、彼を汚染された飲料水中の単一な原因説に向かうことを躊躇させ、何か別の要素の重要性を強調させることになりました。ベルリンのProf. Robert Kochは原因物質を一つに絞り込んでコレラ菌を発見し、相次いで他の菌の発見に成功しました。Prof. Pettenkoferは篤実な人物として知られ、どうみても嫉妬からではなく本気でコレラ菌説に反対し、聴衆の前でコレラ菌の培養濃縮液を飲んでみせ、発病しないことを実証したりしました。しかしコレラ菌説が世の中に定着し、老後の鬱状態もあってProf. Pettenkoferは自殺に至りました。その翌年Prof. Kochはノーベル賞を受賞しました。ある友人の教授に、何故Pettenkoferは発病しなかったのだろうかかと尋ねてみたところ、答えは「免疫があったから」でした。当時、衛生事情が悪くて多くの方がコレラ菌に感染していた筈だということです。医師と薬剤師の両方の資格をもち、有名なLiebigの弟子として、化学の分野でも沢山の業績を残した彼は、同じ原因物質が病気を起こしたり起こさなかったりする再現性の無さに耐えられなかったのだと思います。多分、Prof. Pettenkoferの観察力があまりにも鋭く、遠くを見渡せたが故の悲劇だったのでしょうか。素晴らしく多くの知識を詰め込んだ免疫学という学問が、まだ200年の歴史しか持っていないことに深い感銘を覚えたのです。

## 2. ミュンヘン工科大学のZentrum Allergie und Umwelt (アレルギーおよび環境研究所) 訪問記

ミュンヘンにはミュンヘン大学とミュンヘン工科大学とがあります。このアレルギーおよび環境研究所(以下研究所と略)は、1999年12月に開所しており、バイエルン州によって建てられたものです。案内用パンフレットにも記載されている様に、近年何らかのアレルギーに悩む人の数が激増し、天然および人工的な環境因子の関与が注目されています。これらの因果関係を科学的に解明し、治療に、更には予防に役立てることを差し迫った目標として計画されたものです。所長のProf. Heidrum Behrendtは女性で、ハンブルグ大学やデュッセルドルフ大学で環境とアレルギーについての研究で知られていた方です。(写真1)日本が大変お好きで、以前に多田富雄先生と御話をした折に、日本文化は「間」の文化だと同ったなどと話しておられました。尊敬の念をこめてこのように記すと年配の方と思われるそうですが、まだ50代前半と思われる、大変きさくで、底抜けに明るい方です。彼女の名はもう少し正確に言うと、Prof. Heidrum Ring-Behrendtで、ご主人のProf. Johannes Ringは同じ大学の教授でAllergologeアレルギー学者であり、このセンターの立ち上げに重要な役割を果たした方です。彼女は結婚が遅かったので、公式には前の名前を使うことが多いとのこと。私は彼女をFrau Ringと呼んでいます。

この研究所ではいくつかの臨床の科と連携して(特に深い関係があるのは皮膚アレルギー科、耳鼻科、呼吸器



写真1

内科など) アレルギーを持つ患者さんの病態の把握、病因の究明、治療法の検討と確立などに当たる他、動物を用いたアレルギーの実験、細胞免疫の研究、分子生物学的手法による免疫毒性の解析(ミクロでの曝露実験等を含む)など、大きく分けて4つのグループから構成されています。それぞれのグループには責任者がいて、より具体的な5-10のテーマについて研究が行われています。専属のスタッフ(バイエルン州に所属)はそれほど多人数ではありませんが、グラントによる研究者や臨床の各科からやってくるスタッフ、ハンブルグ大学などから必要に応じてやってくるスタッフなどから成っています。ドイツは大学間の連携が容易に行われる所ですが、まだ完成したばかりの、明るい雰囲気、情熱に溢れた集団に加わってくる人が今後増えるものと思われます。清潔で明るい研究所を案内して頂きましたが、機器に関しては日本の研究室とほぼ同じような感じです。建物は地下1階、地上2階建て、総面積574平方メートルとドイツの建物としてはこじんまりしており、各階は研究テーマごとに分割して占有され、新しいデータや学会発表のポスターなどがそれぞれの壁を見事に彩っていました。

ドイツの大学でいつも感じるのは、建物が大きいこと、スタッフの数が多く、そして殆どが官営であるのに



写真2

隅々までが清潔に光っておりメンテナンスにも相当の資金が投入されていると思われることです。また、御互いの仕事について実に素直に評価し合うことも確かで、天井が空に向かって開いているような開放感と充実感が味わえるように思います。これは多分、人間の力のはるかに及ばない宇宙を支配する力、絶対なる正義、神といったものを意識する長い歴史と文化が根底にあるためかと思えます。

機器の中で一つ印象に残ったのは、炎症反応によるヒスタミンの放出量を、生体にセンサーを挿入してin vivoで測定することの出来る機械で、精密機器メーカーとの協力による試作品とのことでした。初めてみるこの機械は、かなりの“すぐれもの”と思いました。(写真2)

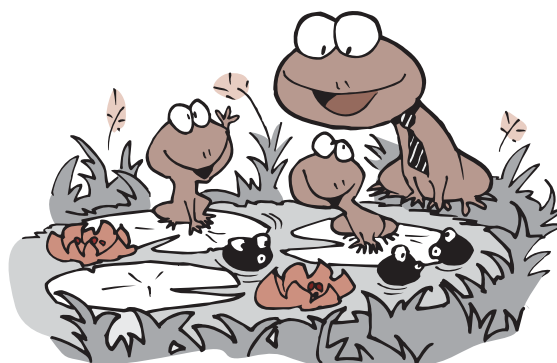
所長のProf. Behrendtは環境中物質による人の免疫系への作用について強い関心を持っています。今日急速に、様々なアレルギーを持つ人が増えていることもあり、環境因子による免疫毒性が注目されていることもあります。彼女自身silicaの免疫に与える影響を白血球(顆粒球)を使ってデュッセルドルフ大学で研究していたという経緯にもよると思います。私もsilicaについて興味をもって来ましたので、気の合う間柄です。

明るく広々とした空間、清潔でセンスのある建物内部の構築、細部までよく計画されて作られた部署ごとの設備を大変羨ましく思い、5年先、10年先の大きな成果を期待しているところです。

## 編集後記

今年の1月に発行されたNatureに掲載された迷走神経を介した経路によってマクロファージが関与する炎症反応を抑制する機構についての論文を読むと、改めて神経免疫軸での制御機構が果たしている役割にははかりしれない重要性が隠れていると感じられました。経済発展した人間社会の中で、5感を通して生体に入る情報にはものすごい量があり、それを巧みに処理をして恒常性を保ちつつ生存しているわけですから、SARSのような感染因子情報が突然加わると、免疫系への負担が大きくなり恒常性の維持機構に更なる負荷が加わっているのではないのでしょうか。今回、視覚をほど良く刺激する試みとして、カラー写真を多く掲載させていただきました。

(HF記)



**編集・発行：日本免疫毒性学会**

発行日：平成15年6月

編集発行責任者：大沢 基保

編集委員会：香山不二雄、中村 和市、  
牧 栄二、藤巻 秀和

原稿送付先：fujimaki@nies.go.jp