

2011年7月23日  
千葉科学大学シンポジウム

欧米、日本における代替法の現  
状と化粧品安全性評価におけ  
る  
代替法

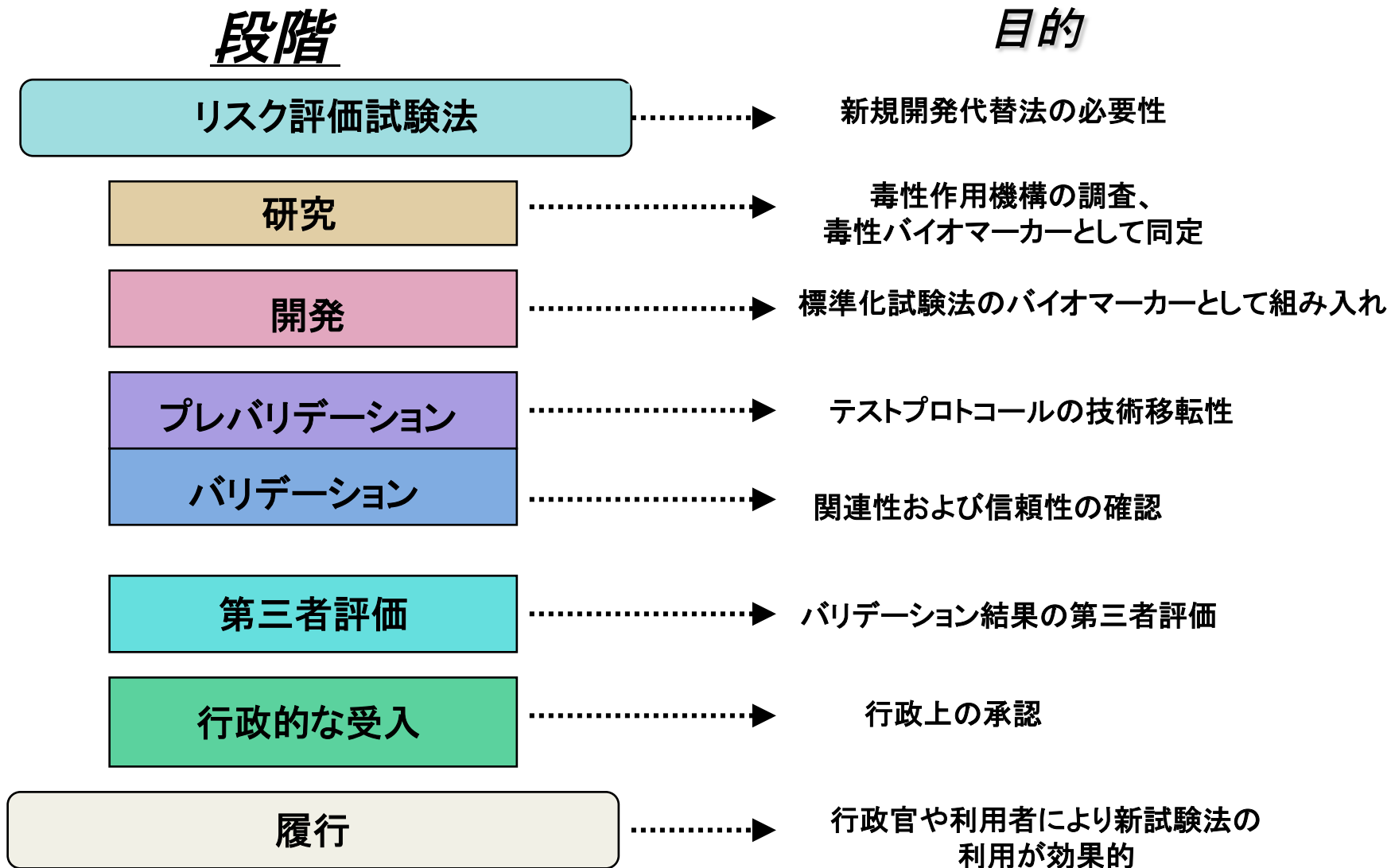


国立医薬品食品衛生研究所  
小島 肇

# 目次

1. 欧米の動向
2. 化粧品規制の国際協調
3. 厚生労働省からの通達
4. この通知を読んでの疑問
5. 最後に

# 欧米の動向



## 試験法公定化の過程

# 動物実験の3Rs

(Russel and Burch 1959)

## ○ Replacement

動物を用いない方法に置き換える

(例) In Vitro エンドトキシン試験法

## ○ Reduction

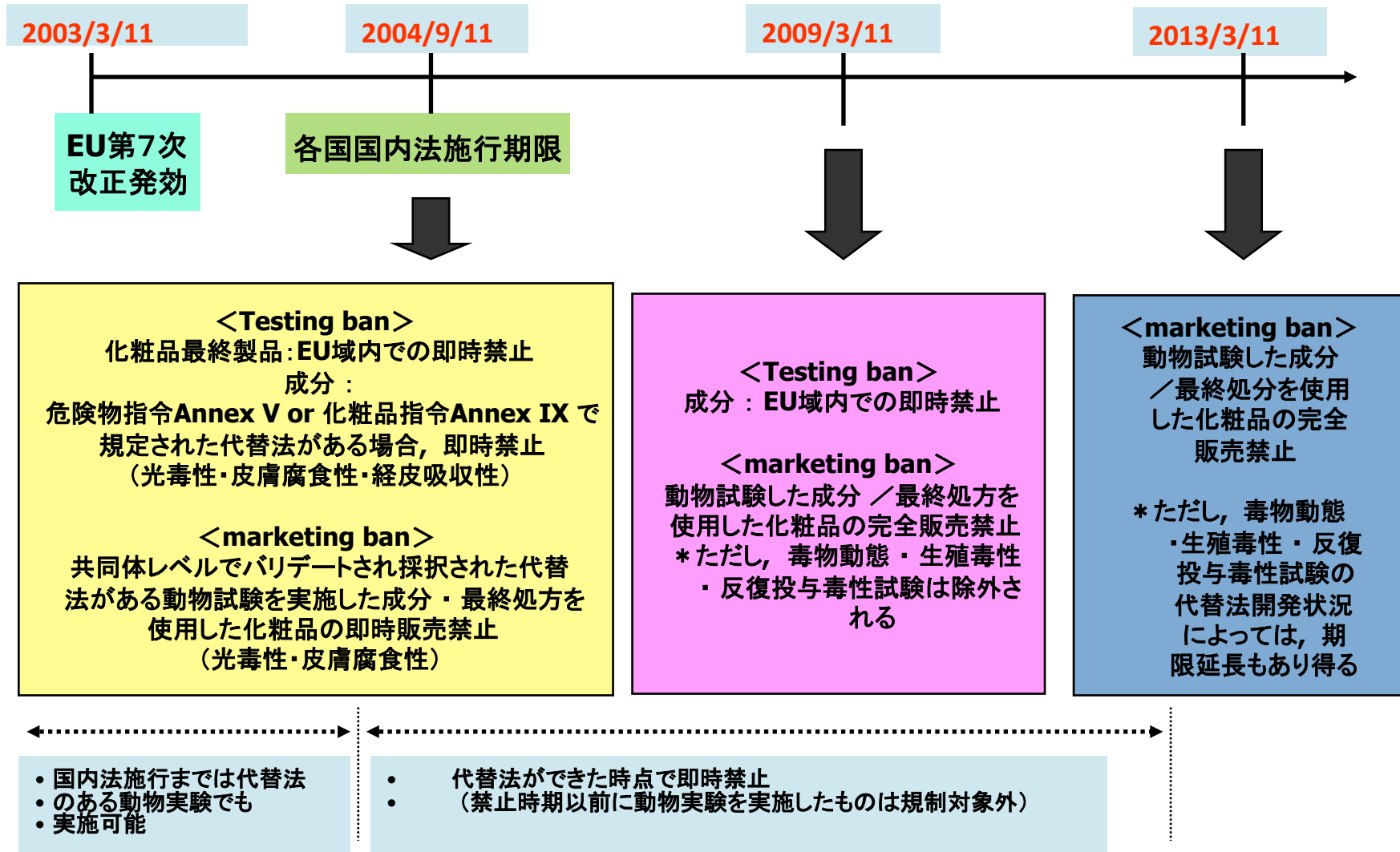
動物の使用数の削減

(例) 固定用量による単回投与試験

## ○ Refinement

動物使用に伴う苦痛の削減

# EU化粧品における動物実験規制



# 7th Amendment of the EU Cosmetics Directive 76/768/EEC 2003

## Ban of testing in animals

immediately ➡ since 2003

Testing of - finished products

Testing for - phototoxic potential  
- skin penetration  
- skin corrosion

Intensive research will be required to reach validation and regulatory acceptance of in vitro test for the following endpoints

31. Dec. 2009 - eye irritation  
- skin irritation

31. Dec. 2013 - skin sensitization ?  
- embryotoxicity ?  
- repeat dose assay?

# **Towards replacement of repeated dose toxicity testing in human safety assessment**

**EU & COLIPA funding for 6 years 50 Mio €**

EU-Legislation, regulations and directives require urgently a phasing out of animal tests thus placing high pressure on research, validation and regulatory acceptance of non-animal alternatives.

The present call reflects the research strategy for the next decade aimed at the development of "human safety assessment strategies". Emphasis will be put on the exposure route most relevant for repeated dose toxicity testing (oral exposure).

The research plan for the first phase includes specific building blocks:

1. Development and use of functional human-based target cells.
2. Construction of advanced organ-simulating devices.
3. Predictive endpoints and intermediate markers.
4. The development of biological models with emphasis on systems biology.
5. Computational modelling and estimation techniques.
6. Integrated data analysis and servicing.



- [Arch Toxicol.](#) 2011 May;85(5):367-485. doi: 10.1007/s00204-011-0693-22011 May 1.

## Alternative (non-animal) methods for cosmetics testing: current status and future prospects-2010.

[Adler S](#), et al.,

### Abstract

The European Commission invited stakeholder bodies (industry, non-governmental organisations, EU Member States, and the Commission's Scientific Committee on Consumer Safety) to identify scientific experts in **five toxicological areas, i.e. toxicokinetics, repeated dose toxicity, carcinogenicity, skin sensitisation, and reproductive toxicity for which the Directive foresees that the 2013 deadline could be further extended in case alternative and validated methods would not be available in time.** The selected experts were asked to analyse the status and prospects of alternative methods and to provide a scientifically sound estimate of the time necessary to achieve full replacement of animal testing. In summary, **the experts confirmed that it will take at least another 7-9 years for the replacement of the current in vivo animal tests used for the safety assessment of cosmetic ingredients for skin sensitisation.** However, the experts were also of the opinion that alternative methods may be able to give hazard information, i.e. to differentiate between sensitisers and non-sensitisers, ahead of 2017. This would, however, not provide the complete picture of what is a safe exposure because the relative potency of a sensitiser would not be known. For **toxicokinetics, the timeframe was 5-7 years** to develop the models still lacking to predict lung absorption and renal/biliary excretion, and even longer to integrate the methods to fully replace the animal toxicokinetic models. For the systemic toxicological endpoints of **repeated dose toxicity, carcinogenicity and reproductive toxicity, the time horizon for full replacement could not be estimated.**

# 化粧品規制の国際協調

# 薬事制度概要

医薬品、医薬部外品、化粧品及び医療機器の品質、有効性及び安全性の確保のために必要な規制を行うとともに、医療上特にその必要性が高い医薬品及び医療機器の研究開発の促進のために必要な措置を講ずることにより、保健衛生の向上を図ることを目的とする。(薬事法第1条)

## 開発・治験

- 臨床試験基準

## 承認審査

- 独立行政法人医薬品医療機器総合機構による審査
- 医薬品等の品質、有効性及び安全性の確認

## 製造規制

- 製造販売業許可
- 製造管理基準・安全管理基準

## 販売規制

- 医薬品販売業許可
- 薬局・一般販売業・薬種商・配置販売業等

## 市販後安全対策

- 副作用(医薬品)、不具合(医療機器)情報の収集
- 安全対策措置(添付文書改訂等)

## 監視指導

- 無承認・無許可医薬品・医療機器等の監視指導等
- 不良医薬品・医療機器等の取締り

## 副作用被害救済

- 医薬品副作用被害救済制度
- 特定救済事業(C型肝炎訴訟等)

## 医薬品等の分類

医薬品

医療用医薬品

新医薬品

(医師の処方が必要)  
約12,000品目

後発医薬品

一般用医薬品

(薬局等で直接購入可能)  
約13,000品目

医薬部外品

(薬用歯みがき、浴用剤等)

約96,000品目

化粧品

(口紅、シャンプー等)

数万品目?(大手1社で6000品目以上)

医療機器

(ペースメーカー、MRI、メス等)

約30万品目?



## 国際動向：制度の比較

- 医薬品・化粧品の区分け

米国	医薬品	化粧品	
欧州	医薬品	化粧品	
日本	医薬品	医薬部外品	化粧品



- 製品カテゴリーが異なる場合の例

	米国	欧州	日本
日焼け止め製品	OTC医薬品	化粧品	化粧品
美白製品*	化粧品**	化粧品	医薬部外品
腋臭防止剤	化粧品(デオドラント) 又は OTC 医薬品(制汗剤)	化粧品(デオドラント)	医薬部外品




\*メラニン生成抑制製品。

\*\*日本で美白製品として販売されているものの米国における扱い。

参考：化粧品事典 日本化粧品技術者会編 丸善株式会社

医薬部外品の 使用目的	医薬部外品の 種類と効能		
口臭もしくは体臭 の防止	・腋臭防止剤 ・薬用歯磨き類 ・薬用化粧品(薬用石鹸)	・汗臭の防止/制汗 ⇒OTC薬 ⇒化粧品 ・口臭の防止 ⇒化粧品	・汗臭の防止/制汗 ⇒化粧品 ・口臭の防止 ⇒化粧品
あせも、ただれ等 の防止	・てんか粉類 ・薬用化粧品(防あせも、剃刀まけ)	⇒OTC薬	⇒化粧品*
脱毛の防止, 育毛または除毛	・育毛剤 ・除毛剤 ・薬用化粧品(防ふけ、かゆみ)	・脱毛防止, 育毛 ⇒OTC薬 ・ふけ防止 ⇒OTC薬 ⇒化粧品 ・除毛 ⇒化粧品	・脱毛防止, ふけ防止, 除毛 ⇒化粧品 ・育毛 ⇒各国法規で異なる
染毛	・染毛剤(脱色剤, 脱染剤)	⇒化粧品	⇒化粧品
パーマント・ ウェーブ	・パーマント・ウェーブ用剤	⇒化粧品	⇒化粧品
にきび, 肌荒れ, かぶれ, しもやけ 等の防止	・薬用化粧品(防肌荒れ, あれ性, しも やけ, ひび, あかぎれ, にきび, 油性 肌, 日やけによるしみ・そばかす, 日 やけ, 雪やけ後のほてり)	・肌荒れ, あれ性, 油性肌, 日やけ 雪やけ後のほてり) ⇒化粧品 ・しもやけ, ひび, あかぎれ, にきび, 日やけによるしみ・そばかす ⇒OTC 薬	・肌荒れ, あれ性, 油性肌, しもや け, ひび, あかぎれ, 初期にきび, 日やけ・雪やけ後のほてり, 日 やけによるしみ・そばかす ⇒化粧品*
皮膚・口腔 の殺菌消毒	・薬用化粧品(皮膚の殺菌・消毒, 歯周 炎・歯肉炎の予防)	・皮膚の殺菌・消毒, 歯周 炎・歯肉炎の予防 ⇒OTC薬	・皮膚の殺菌・消毒 ・歯周炎・歯肉炎の予防 ⇒化粧品
浴用剤	・浴用剤	⇒OTC薬	⇒医薬品に該当するものあり
まとめ	—	口臭防止, 除毛, 染毛, パーマ, 肌	浴用剤以外は化粧品

\* : 病的な状態を防ぐ目的では医薬品に該当する可能性あり

				
【新医薬部外品】、【PL】 薬審1第24号 医薬審発第325号	【化粧品】 JCIA 安全性評価指針 (2008改訂予定)	【化粧品】 CTFA 安全性評価 ガイドライン(2007)	【化粧品】 COLIPA ドシエ作成 ガイドライン(2008)	【化粧品】 SCCP 安全性評価 ガイダンス(2006)
単回投与毒性	単回投与毒性	単回投与毒性	単回投与毒性	単回投与毒性
反復投与毒性	—	反復投与毒性	反復投与毒性	反復投与毒性
生殖発生毒性	—	生殖発生毒性	生殖発生毒性	生殖発生毒性
皮膚一次刺激性	皮膚一次刺激性	皮膚一次刺激性	皮膚一次刺激性	皮膚一次刺激性
連続皮膚刺激性	<b>連続皮膚刺激性</b>	—	—	—
皮膚感作性	皮膚感作性	皮膚感作性	皮膚感作性	皮膚感作性
光毒性	光毒性	光刺激性	光刺激性	光刺激性
光感作性	光感作性	光アレルギー	光感作性	光感作性
眼刺激性	眼刺激性	眼刺激性	眼刺激性	眼刺激性
遺伝毒性	遺伝毒性	遺伝毒性	遺伝毒性	遺伝毒性
ヒトパッチテスト(PT)	ヒトパッチテスト	ヒトパッチテスト	ヒトパッチテスト	(ヒトのデータ)
吸収・分布・代謝・排泄	—	—	トキシコキネティクス	トキシコキネティクス
—	—	<b>粘膜刺激性</b>	—	—
—	—	<b>管理下ヒト適用試験</b>	—	—
—	—	経皮吸収	経皮吸収	経皮吸収
—	—	皮膚腐食性	皮膚腐食性	皮膚腐食性
—	—		<b>発がん性</b>	<b>発がん性</b>
—	—		<b>光遺伝毒性</b>	<b>光遺伝毒性</b>



科学的にバリデートされた方法については安全性評価法として、またある条件下で評価に適していると考えられる代替試験法は、**スクリーニング**として積極的に活用していくべき。

Q2: 代替試験法による試験成績を申請資料として用いることは可能か。

A2: **OECD等により採用された代替試験法あるいは適切なバリデーション**でそれらと同等と評価された方法に従った試験成績であれば差し支えない。(化粧品・医薬部外品の製造販売ガイドブック2008)



現時点で代替法は規制官庁に完全には受け入れられていないが、**スクリーニングツール**または**総合的安全性プログラム**の一部として有用。



EU委員会によって採択された**3R戦略**に関する最新策が組み込まれている。特に SCCP は化粧品成分の安全性試験に適した代替法に注意を向けている。

<p>規制・制度</p>	<p>①各国のカテゴリの相違</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・日本の医薬部外品</li> <li>・同じ製品のカテゴリの相違(例:美白剤 日;部外品, 米:医薬品, 欧;化粧品)</li> </ul> <p>②GLP, GCP基準への準拠</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・欧米;GLP, GCP基準に準拠 日:非GLPで可</li> </ul>
<p>安全性試験法</p>	<p>①評価項目の相違</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・日本のみ「連続皮膚刺激性試験」</li> <li>・米国のみ「粘膜刺激性試験」, 「管理下ヒト適用試験」</li> <li>・欧州のみ「発がん性試験」, 「光遺伝毒性試験」</li> <li>・欧米共通「経皮吸収試験」, 「皮膚腐食性試験」</li> </ul> <p>②試験項目の相違</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・欧州のみ「in vivo 遺伝毒性試験」の実施不可</li> <li>・生殖発生毒性試験のガイドラインは米国が ICH と OECD, 欧州は OECDのみ</li> </ul> <p>③試験内容の相違</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・皮膚一次刺激性の適用時間</li> </ul>
<p>代替法の活用</p>	<p>①各国ともバリデートされた代替法の活用で一致</p>

規制・制度や安全性試験法の相違は、使用動物数やコストの増加に繋がる  
 ⇒ ICCR 等を通じて、国際間のハーモナイゼーションが必要



# ICCRの動向

## 化粧品規制協力国際会議について

平成19年10月11日

厚生労働省、米国医薬食品庁(FDA)、カナダ厚生省、欧州委員会企業産業総局が2007年9月26～28日にブリュッセルで化粧品に関する規制を議論するために会議を行った。

これは「化粧品規制協力国際会議」(International Cooperation on Cosmetics Regulations, ICCR)の最初の会議であり、この会議は化粧品の安全性を国際協力を通じて確保するための情報交換の場となるものである。

この会議では、以下の議題が話し合われた。

- 適正製造規範(GMP)
- 化粧品国際命名法(INCI nomenclature)の使用
- ナノテクノロジー
- 市場監視システムと協力
- **化粧品成分の安全性評価と動物代替試験法**

# 厚生労働省からの通達

事 務 連 絡  
平成 23 年 2 月 4 日

各都道府県衛生主管部（局）薬務主管課 御中

厚生労働省医薬食品局審査管理課

医薬部外品の承認申請資料作成等における動物実験代替法の利用と  
JaCVAM の活用促進について

医薬部外品の製造販売承認申請等に添付する資料については、平成 18 年 7 月 19 日付医薬食品局審査管理課事務連絡「医薬部外品の製造販売承認申請及び化粧品基準改正要請に添付する資料に関する質疑応答集(Q&A)について」において、動物実験代替試験法等の利用に関して OECD 等により採用された代替試験法あるいは適切なバリデーションでそれらと同等と評価された方法に従った試験成績であれば、当該品目の申請資料として差し支えない旨を示しているところです。

一方、国内では JaCVAM: Japanese Center for the Validation of Alternative Methods (日本動物実験代替法検証センター) が、国際的な動物実験代替法開発の取組みである ICATM: International Cooperation on Alternative Test Methods (代替試験法協力国際会議) と連携し、動物実験代替法に関する情報を取りまとめ、また、新規開発及び改定された動物実験代替試験法の妥当性評価を行い、その評価結果等を公表しています。

医薬部外品の承認申請資料の作成においては、下記に示す JaCVAM のホームページに掲載されている情報も参考の上、適切な資料を作成し、また化粧品のポジティブリスト改正要望等においても活用が図られるよう、貴管下関係業者に対し周知をお願いします。

# 医薬部外品の承認申請資料作成等における動物実験代替法の利用と

## JaCVAMの活用促進について

- 医薬部外品の製造販売承認申請等に添付する資料については、平成18年7月19日付医薬食品局審査管理課事務連絡「医薬部外品の製造販売承認申請及び化粧品基準改正要請に添付する資料に関する質疑応答集(Q&A)について」において、動物実験代替試験法等の利用に関してOECD等により採用された代替試験法あるいは適切なバリデーションでそれらと同等と評価された方法に従った試験成績であれば、当該品目の申請資料として差し支えない旨を示しているところです。
- 一方、国内ではJaCVAM：Japanese Center for the Validation of Alternative Methods（日本動物実験代替法検証センター）が、国際的な動物実験代替法開発の取組みであるICATM：International Cooperation on Alternative Test Methods（代替試験法協力国際会議）と連携し、動物実験代替法に関する情報を取りまとめ、また、新規開発及び改定された動物実験代替試験法の妥当性評価を行い、その評価結果等を公表しています。
- 医薬部外品の承認申請資料の作成においては、下記に示すJaCVAMのホームページに掲載されている情報も参考の上、適切な資料を作成し、また化粧品のポジティブリスト改正要望等においても活用が図られるよう、貴管下関係業者に対し周知をお願いします。



### Japanese Center for the Validation of Alternative Methods

Office : New Testing Method Assessment, Division of Pharmacology,  
National Biological Safety Research Center (NBSRC),  
National Institute of Health Sciences (NIHS)

日本語 English Google  Search  www  jaovam.jp



About JaCVAM



Update on JaCVAM



Academic activities



Submission of Alternative  
Methods to JaCVAM



International Cooperation

**Policy and Mission:** JaCVAM's policy and mission is to promote the 3Rs in animal experiments for the evaluation of chemical substance safety in Japan and establish guidelines for new alternative experimental methods through international collaboration.

the 3Rs in animal experiments—Reduction (of animal use)

Refinement (to lessen pain or distress and to enhance animal well-being)

Replacement (of an animal test with one that uses non-animal systems or phylo-genetically lower species)  
(OECD GD34)

### News

- 📧 **[NEW]** news texts dummy texts news texts dummy texts news texts dummy texts(2009.7.16)
- 📧 news texts dummy texts news texts (2009.7.3)
- 📧 news texts dummy texts news texts dummy texts news texts dummy texts (2009.7.3)

### Contents

- 📧 About JaCVAM
  - Message from JaCVAM / Policy and Mission of JaCVAM / Organization of JaCVAM / Glossary / Proposal for Engagement Rules
- 📧 JaCVAM Activities

## JaCVAMの設立とその目的

2005年11月、国立衛研内で活動を始める  
(設立者:大野泰雄 現所長)

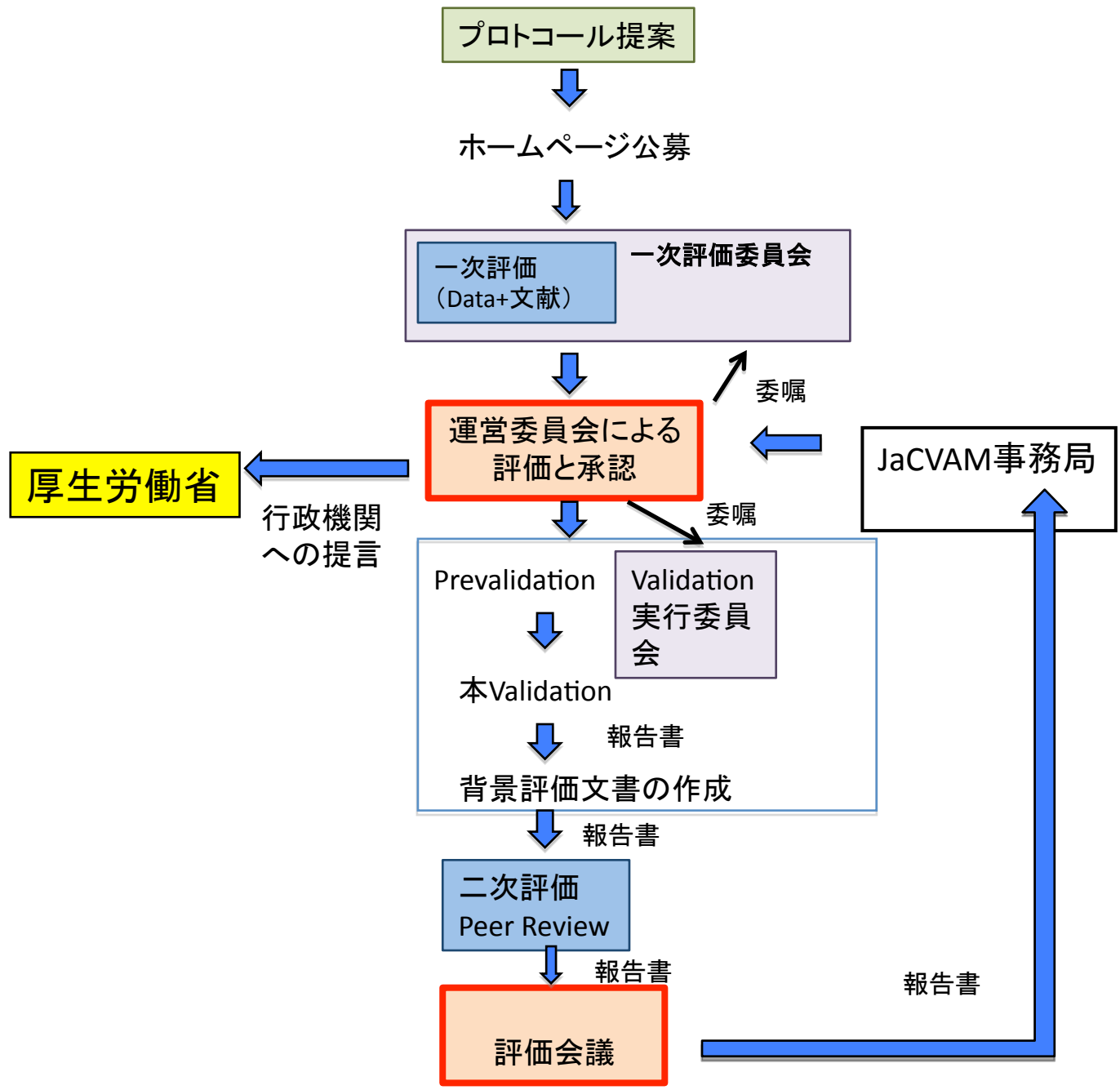
- 医薬品等化学物質の安全性および有効性試験にかかわる動物実験の3Rs (Reduction、Refinement、Replacement) の促進
- 国際協調を重視した新規動物実験代替法の公定化

## 日本動物実験代替法検証センター設置規則

(JaCVAMの設置)

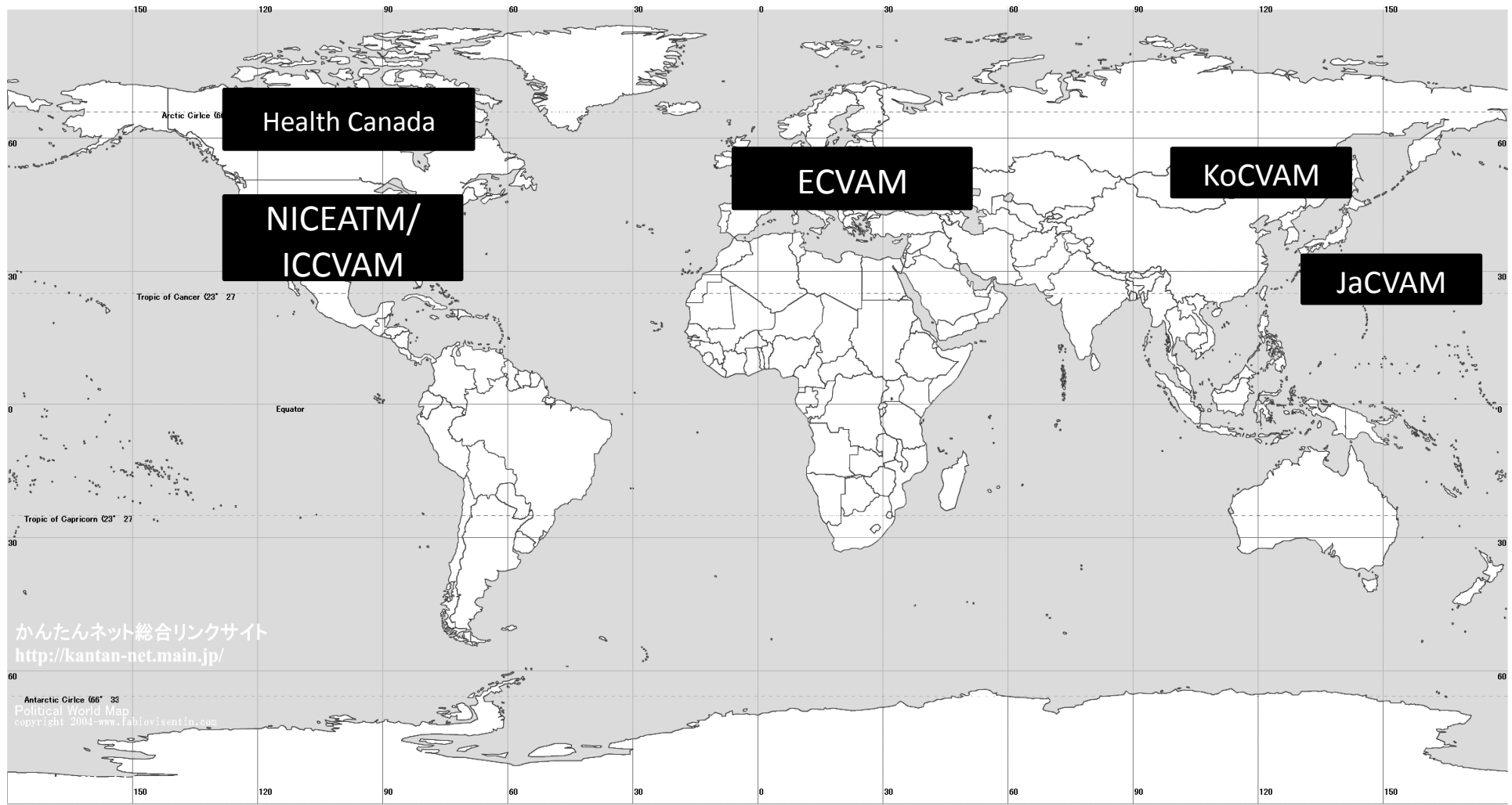
**第1条** 国立医薬品食品衛生研究所(以下「国立衛研」という。) 安全性生物試験研究センター(以下「安全センター」という。)に、日本動物実験代替法検証センター(以下「JaCVAM」という。)を置く。なお、JaCVAMのセンター長は、安全センターのセンター長とする。

**2** JaCVAMの英名は、「Japanese Center for the Validation of Alternative Methods」とする。

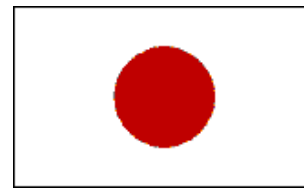




# VAM Center in the world



# International Cooperation on Alternative Test Methods (ICATM)



## この通知を読んでの疑問

- PMDAは申請された代替法の結果だけで、許認可するのか？
- どの代替法が受け入れられるのか？ OECD テストガイドラインはすべて可か？
- 代替法で行った結果はどういう場合に受け入れられるのか。
- 代替法でどこまで安全性は担保できるのか。

PMDAは申請された代替法の結果  
だけで、許認可するのか？

## 現状

- 2002年にTGとなったIn vitro光毒性試験や皮膚感作性試験LLNAのみが許認可に用いられていると聞いている。今後も、適切な代替法が増えていけば、許認可資料として採用できる試験法は増えていくであろう。

## 審査側の問題点

- 日本人が実験したこともない試験法にどう対処するか。欧米企業が申請資料として用いる可能性はありうる。
- 改良がなされていく代替法にどう対処するか  
(例: BCOP)

## JaCVAM 評価会議によって認証された動物実験代替法

No.	Test Method
1	<i>In vitro</i> skin corrosion testing: Vitrolife-Skin, EpiDerm
2	The Bovine Corneal Opacity and Permeability (BCOP) Test Method for Identifying Ocular Corrosives and Severe Irritants
3	The Isolated Chicken Eye (ICE) for Identifying Ocular Corrosives and Severe Irritants
4	Skin sensitization assay, LLNA : DA
5	Skin sensitization assay, LLNA : BrdU-ELISA
6	<i>In vitro</i> skin irritation testing: EPISKIN
7	Utilization of cytotoxicity test for acute oral toxicity tetsting

## 医薬部外品のために利用可能と判断された試験法

No.	Test Method
1	<i>In vitro</i> skin corrosion testing: Vitrolife-Skin, EpiDerm
2	The Bovine Corneal Opacity and Permeability (BCOP) Test Method for Identifying Ocular Corrosives and Severe Irritants
3	The Isolated Chicken Eye (ICE) for Identifying Ocular Corrosives and Severe Irritants
4	Skin sensitization assay, LLNA : DA
5	Skin sensitization assay, LLNA : BrdU-ELISA
6	<i>In vitro</i> skin irritation testing: EPISKIN
7	Utilization of cytotoxicity test for acute oral toxicity tetsting



## 困ってしまった問題

- LLNA: DAやLLNA: BrdU-ELISAはJaCVAM評価委員会とICCVAM評価委員会の両方で第三者評価がなされた。
- OECDテストガイドライン(TG)で利用された資料は、日本のバリデーション報告書と、ICCVAM評価報告書であり、日本の評価内容は用いられていない。
- よって、JaCVAM評価委員会の内容とTGの記載事項が数か所異なる。

## OECD GUIDELINE FOR THE TESTING OF CHEMICALS

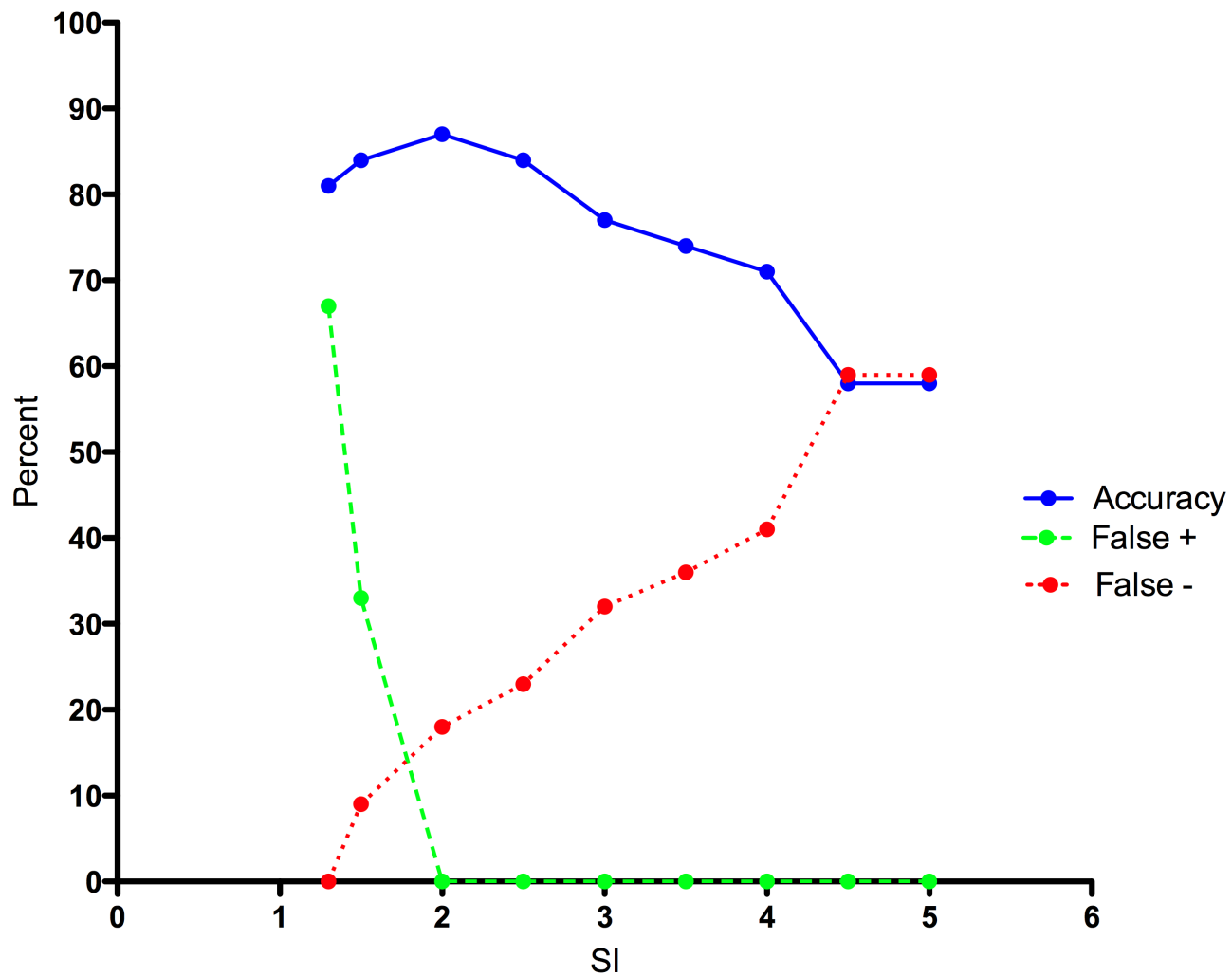
### Skin Sensitization: Local Lymph Node Assay: DA

31. The decision process regards a result as **positive when  $SI \geq 1.8$  (10)**. However, the strength of the dose-response relationship, the statistical significance and the consistency of the solvent/vehicle and PC responses may also be used when determining whether a borderline result (*i.e. SI value between 1.8 and 2.5*) is declared positive (2) (3) (37).
32. **For a borderline positive response between an SI of 1.8 and 2.5**, users may want to consider additional information such as dose-response relationship, evidence of systemic toxicity or excessive irritation, and where appropriate, statistical significance together with SI values to confirm that such results are positives (10). Consideration should also be given to various properties of the test substance, including whether it has a structural relationship to known skin sensitizers, whether it causes excessive skin irritation in the mouse, and the nature of the dose-response relationship observed. These and other considerations are discussed in detail elsewhere (4).

# Accuracy Analyses for 2009

- Alternate decision criteria used to identify sensitizers
  - SI values  $\geq 1.3$ ,  $\geq 1.5$ ,  $\geq 2.0$ ,  $\geq 2.5$ ,  $\geq 3.0$ ,  $\geq 3.5$ ,  $\geq 4.0$ ,  $\geq 4.5$ , or  $\geq 5.0$
  - Absorbance values of treated groups statistically different from control group based on analysis of variance (ANOVA) with a post-hoc Dunnett's test, when multiple treatment groups were tested, or Student's t-test when only there was only one dosed group
  - Mean absorbance values of treated groups  $\geq$  95% confidence interval (CI) of the control group
  - Mean absorbance values of treated groups  $\geq$  2 standard deviations (SD) or  $\geq$  3 SD from the control group mean

# Performance Characteristics with SI - Most Prevalent Outcome for Substances with Multiple Tests



## 医薬部外品のために利用可能と判断された試験法

No.	Test Method
1	<i>In vitro</i> skin corrosion testing: Vitrolife-Skin, EpiDerm
2	The Bovine Corneal Opacity and Permeability (BCOP) Test Method for Identifying Ocular Corrosives and Severe Irritants
3	The Isolated Chicken Eye (ICE) for Identifying Ocular Corrosives and Severe Irritants
4	Skin sensitization assay, LLNA : DA
5	Skin sensitization assay, LLNA : BrdU-ELISA
6	<i>In vitro</i> skin irritation testing: EPISKIN
7	Utilization of cytotoxicity test for acute oral toxicity tetsting

**上記試験法の中には、対象試験法がない。**

どの代替法が受け入れられるの  
か？ OECD テストガイドラインはす  
べて可か？

## OECD Test guideline (TG) on animal testing 3Rs accepted since 2001 1/2

Method	International Acceptance
CORROSITEX Skin Corrosivity Test	OECD TG 435 (2006)
EpiSkin Skin Corrosivity Test	OECD TG 431 (2004)
EpiDerm Skin Corrosivity Test	OECD TG 431 (2004)
SkinEthic RHE Skin Corrosivity Test	OECD TG 431 (2004)
EST-1000 Skin Corrosivity Test	OECD TG 431 (2004)
Rat TER Skin Corrosivity Test	OECD TG 430 (2004)
<i>In vitro</i> reconstructed human epidermis test methods EpiDerm, EPISKIN, SkinEthic RHE	OECD TG 439(2010)
3T3 NRU Phototoxicity Test	OECD TG 432 (2004)
Bovine Corneal Opacity and Permeability (BCOP) Test Method	OECD TG 437 (2009)
Isolated Chicken Eye (ICE) Test Method	OECD TG 438 (2009)

# OECD Test guideline (TG) on animal testing 3Rs accepted since 2001 2/2

Method	International Acceptance
Updated Murine local lymph node assay (LLNA) for skin sensitization (20% reduction)	OECD TG 429 (updated)
Reduced LLNA (rLLNA)	OECD TG 429 (updated)
Nonradioactive LLNA protocol, LLNA: BrdU-ELISA	OECD TG 442B OECD
Nonradioactive LLNA protocol, LLNA:DA	OECD TG 442A OECD
Up and Down Procedure (UDP)	OECD TG 425 (2001)
<i>In vitro</i> micronucleus test	OECD TG 487 (2010)
Fixed Dose Procedure (FDP)	OECD TG 420 (2001)
Acute Toxic Class Method (ATC)	OECD TG 423 (2001)
Inhalation toxicity - acute toxic class method	OECD TG 436 (2009)
Stably transfected human estrogen receptor- $\alpha$ transcriptional activation assay for detection of estrogenic agonist-activity of chemicals	OECD TG 455 (2009)



# OECDテストガイドラインとなった動物実験代替法

TG No.	試験法名	分類	成立日
420	急性経口毒性試験 固定用量法	急性経口毒性	2002.2.8
423	急性経口毒性試験 毒性等級法	急性経口毒性	2002.2.8
425	急性経口毒性試験 上げ下げ法	急性経口毒性	2008.10.16改訂
428	In vitro皮膚吸収試験	経皮吸収	2004.11.23
429	皮膚感作性：局所リンパ節試験	感作性	2010.7.23改訂
430	In vitro皮膚腐食性試験：経皮電気抵抗試験（TER）	腐食性	2004.11.23
431	In vitro皮膚腐食性試験：ヒト皮膚モデル試験	腐食性	2004.11.23
432	In vitro 3T3NRU光毒性試験	光毒性	2004.11.23
435	In vitro皮膚腐食性試験：膜バリア試験	腐食性	2006.8.17
437	摘出鶏眼球試験	眼刺激性	2009.9.8
438	牛角膜混濁&透過性試験	眼刺激性	2009.9.8
439	In vitro皮膚刺激性試験	皮膚刺激性	2010.7.23
442A	皮膚感作性：局所リンパ節試験 LLNA:DA	感作性	2010.7.23
442B	皮膚感作性：局所リンパ節試験 LLNA:BrdU-ELISA	感作性	2010.7.23
455	エストロジェニック アゴニスト活性のための安定に導入されたヒトエストロゲンレセプター $\alpha$ 転写活性試験（STTA）	内分泌かく乱	2009.9.8
471	細菌復帰突然変異試験	遺伝毒性	1997.7.21
473	哺乳類培養細胞を用いるin vitro染色体異常試験	遺伝毒性	1997.7.21
476	哺乳類培養細胞を用いるin vitro遺伝子突然変異試験	遺伝毒性	1997.7.21
479	哺乳類培養細胞を用いるin vitro姉妹染色分体交換試験	遺伝毒性	1986.10.23
480	酵母を用いる遺伝子突然変異試験	遺伝毒性	1986.10.23
481	酵母を用いる体細胞組み換え試験	遺伝毒性	1986.10.23
482	DNA傷害および修復／哺乳類培養細胞を用いるin vitro不定期DNA合成試験	遺伝毒性	1986.10.23
487	哺乳類培養細胞を用いるin vitro小核試験	遺伝毒性	2010.7.23

(赤字：日本で評価済み)

## OECD テストガイドラインとして検討中の方法

No.	試験法	分類	OECD TG No.
1	BCOP 病理&偽陰性削減	眼刺激性試験	GD&SPSF(2011)
2	サイトセンサーアッセイ (CM)	眼刺激性試験	d r a f t T G
3	蛍光色素放出アッセイ (FL)	眼刺激性試験	d r a f t T G
4	Topical Anesthetics, Systemic Analgesics, and Humane Endpoints	眼刺激性試験	SPSF (2011)
5	STE法	眼刺激性試験	SPSF (2011)

さらに、遺伝毒性試験の試験法見直しを実施されており、注意が必要である。

## 国際的な第三者評価の現状と編纂委員会

試験法	中心機関	時期	日本からのreviewer (敬称略)
形質転換試験	ECVAM (ICATM reviewer)	2010/10-2011/3	筒井健機
内分泌かく乱試験 Lumi-cellアッセイ	ICCVAM (ICATM reviewer)	2010/11-2011/3	小野 宏
急性毒性試験代替	ECVAM (ICATM reviewer)	2011/5-	推薦なし
In vitro皮膚感作性	ECVAM (ICATM reviewer)	2011/10-	推薦なし
Lab C y t e皮膚刺激性代替	OECD	2009/10-2010/3	なし
眼刺激性試験STE法	ICCVAM (ICATM reviewer)		未定
眼刺激性試験SIRC	J a C V A M	-2011/4	小坂 (残農研) 他5名
眼刺激性 MATREX	J a C V A M	-2011/4	小坂 (残農研) 他4名
r LLNA		2011/6-12	金澤 (PMDA)
評価の済んでいない培養モデルを用いた皮膚刺激性・腐食性		2011/6-12	赤松(藤田保健衛生大)
眼刺激性試験 BCOP改定	資料編纂	2011/6-12	簾内 (国立衛研)
眼刺激性試験代替細胞機能試験 (CM)		2011/6-12	小坂 (残農研)
眼刺激性試験代替細胞機能試験 (FL)		2011/6-12	吉村 (元・東京理科大)
In vitro小核試験		2011/6-12	浅野 (近畿大)

# JaCVAMの方針

- 国際的な承認が必要な試験法に関しては、原則として、バリデーションや第三者評価をICATMの協力を得て行う。すなわち、資料はすべて英語で作成する。
- 言語の問題から、第三者評価を受けて、資料編纂委員会が評価会議に提出する資料(要約および要点)を日本語でまとめ直す。

# 小活

- OECD テストガイドラインは化学物質の分類をするためのガイドラインである。動物実験で得られる細かな分類をできるものは少なく、そのまま医薬部外品の許認可資料に向いていないものもある。
- JaCVAM評価会議が認めた方法のみを採用して頂きたい。

代替法で行った結果はどういう場合に受け入れられるのか。JaCVAM評価書を読んでもよくわからない。

# ガイダンス案の策定

- **in vitro光毒性試験の医薬部外品の製造販売承認申請における安全性に関する資料への活用のガイダンス(案)**
- **感作性試験代替法(LLNA)の医薬部外品の製造販売承認申請における安全性に関する資料への活用のガイダンス(案)**

2011年7月現在

# ガイダンス案作成メンバー

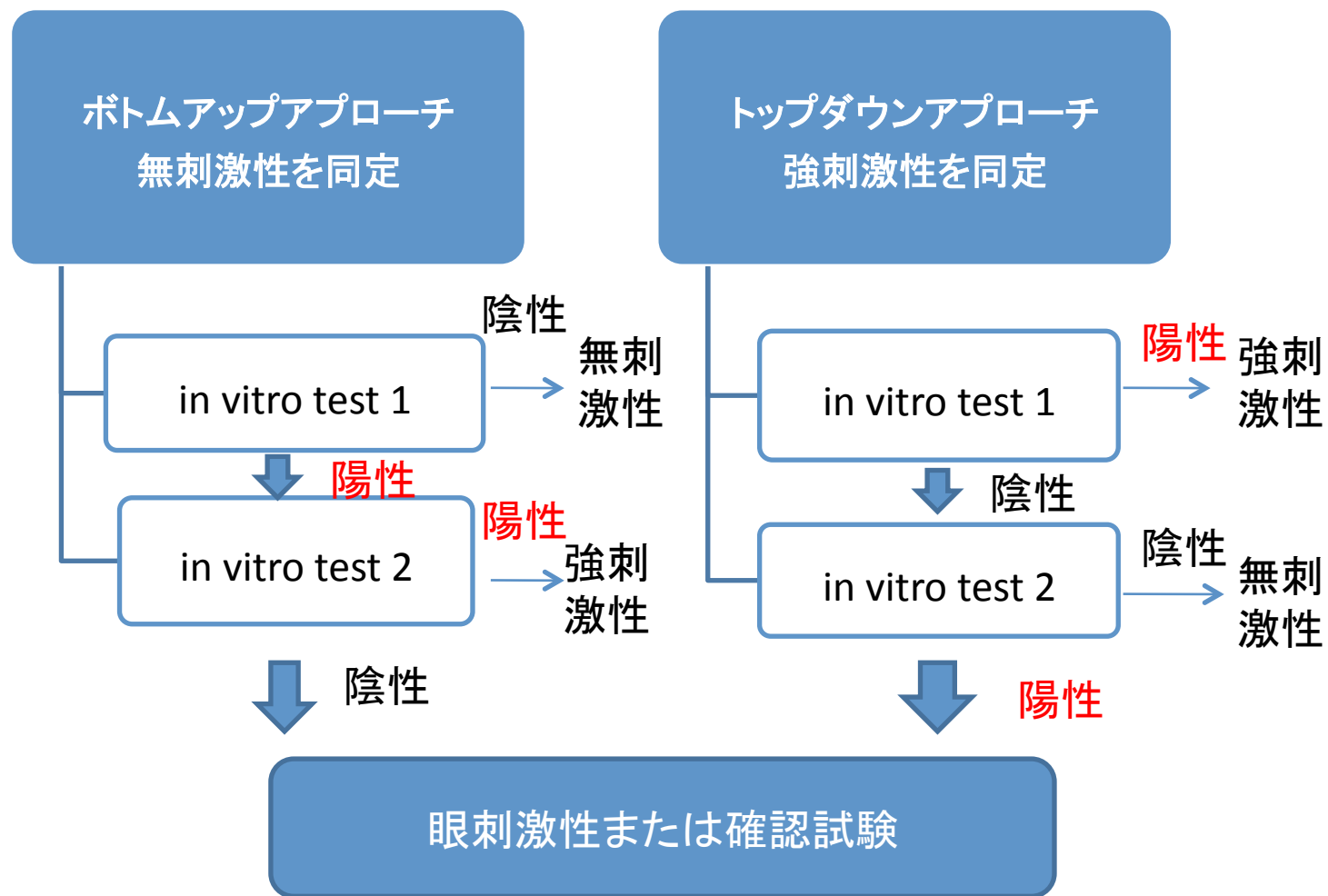
- 厚生労働省 1名
- PMDA代表 2名
- 国立衛研 2名
- 皮膚科医 1名
- 業界代表 数名



代替法でどこまで安全性は担保  
できるのか。

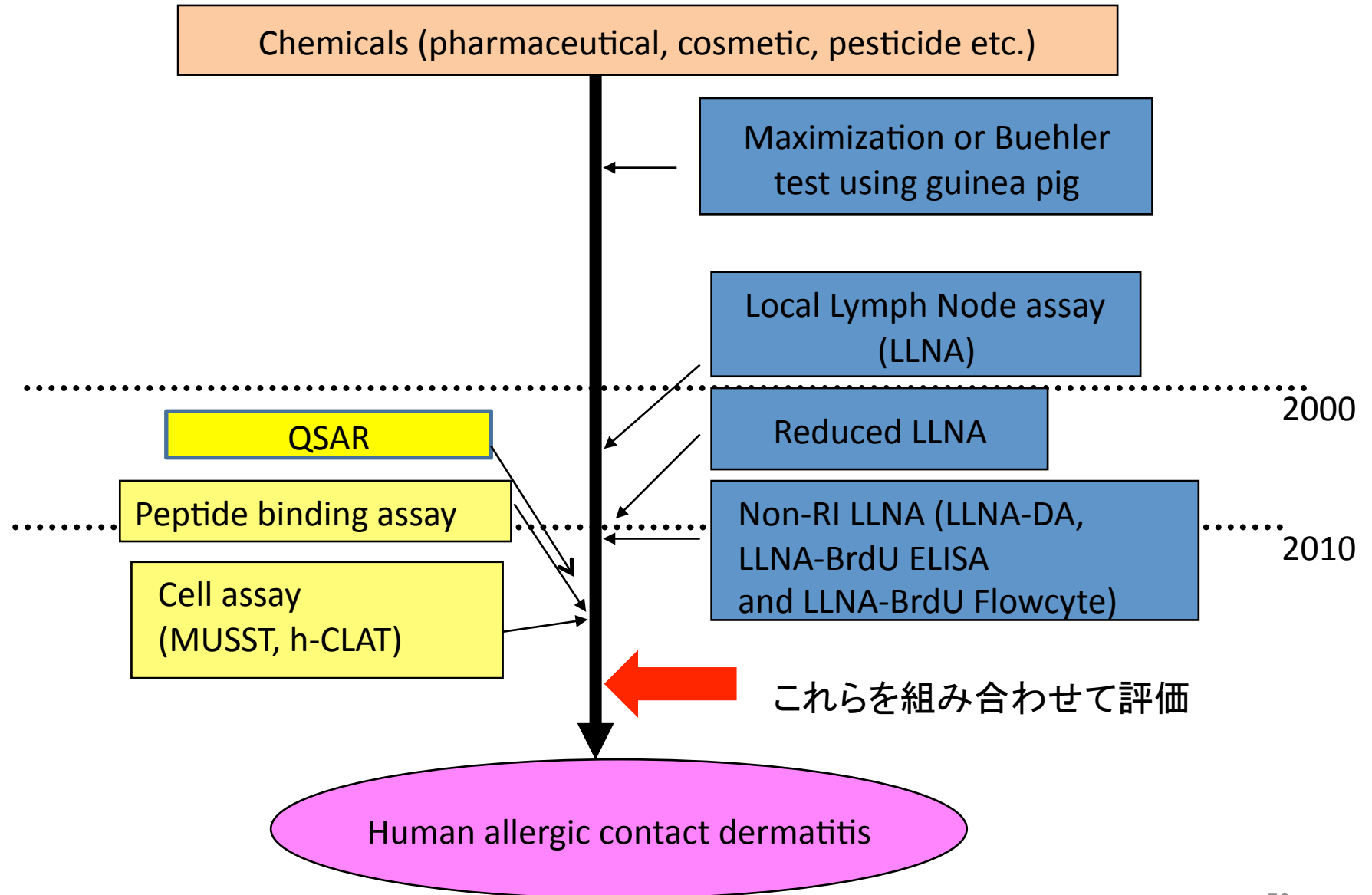
# 現在の代替法の特徴

- 単独試験法で安全性を担保できる代替法はない。
- 物性、既存物質との比較、構造活性相関、別の代替法との組み合わせが必要である。
- 試験ありきでなく、情報を活用した毒性の想定が重要である。
- 有害性の評価には有用だが、リスク評価はできない。
- 正確性が良くても、偽陰性の多い方法は認められない。

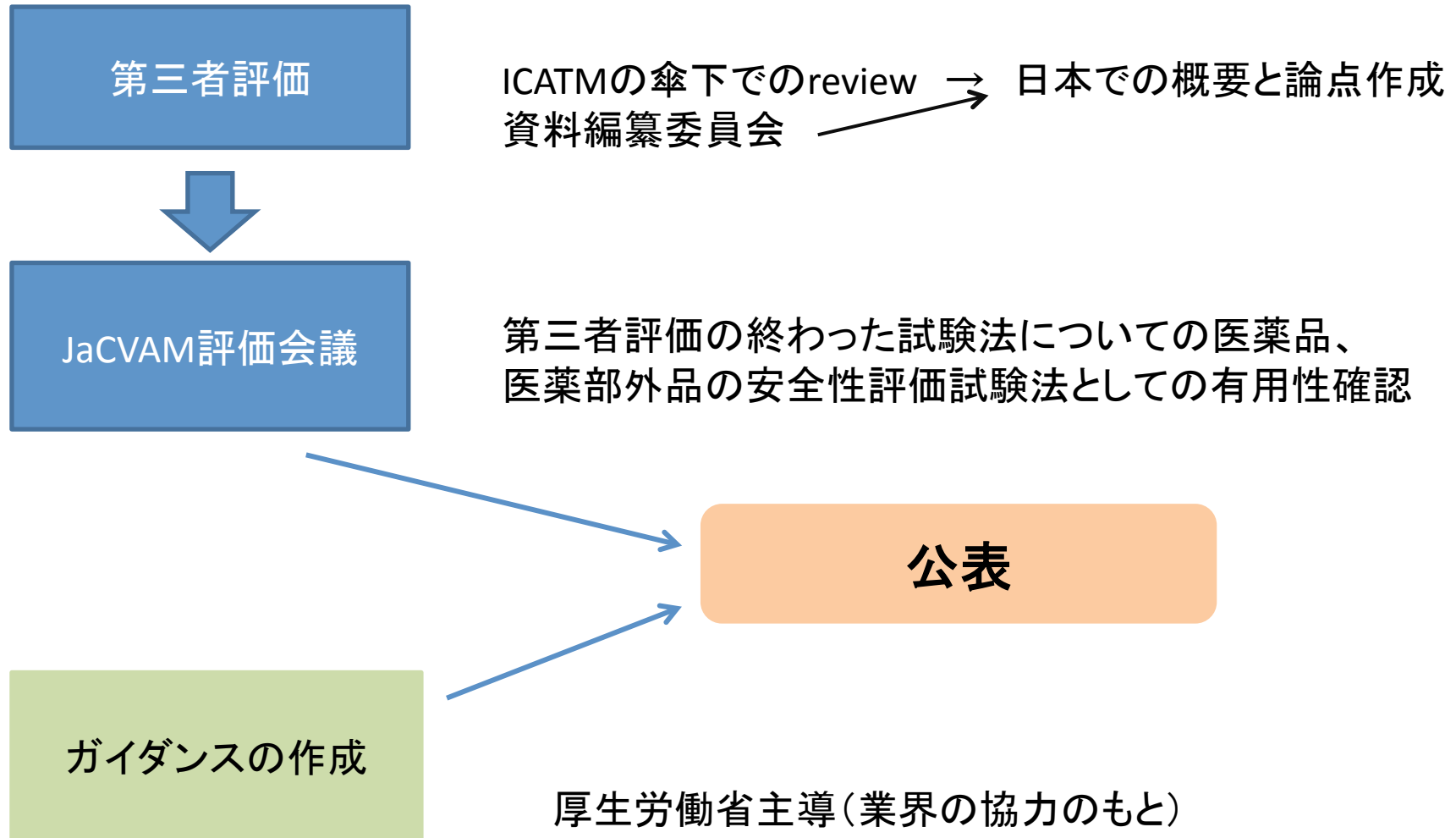


眼刺激性評価における代替法の組合せ

# 皮膚感作性試験の経緯



# 通達に対応するためにすべきことのまとめ



# 最後に

- 代替法が順調に開発されても完全置き換えは当面の間、無理である。
- 化粧品開発に代替法しか使わないこと、すなわち、新規原料を使わないことを意味する。
- 動物実験結果はゴールドスタンダードではないことの認識が必要であり、国際協調を基本に必要な試験法を再検討すべき時期に来ている。
- 既存の試験法代替(保守的)でなく、安全性評価にはどのような項目が必要か、in vitro toxicologyをどう使いこなすかの発想の転換が必要である。



pixta.jp - 2637262

「道のため、人のため、国のため」



About JaCVAM



Update on JaCVAM



Academic activities



Submission of Alternative  
Methods to JaCVAM



International Cooperation

# 御清聴ありがとうございました

Policy and Mission: JaCVAM's policy and mission is to promote the 3Rs in animal experiments for the evaluation of chemical substance safety in Japan and establish guidelines for new alternative experimental methods through international collaboration.

the 3Rs in animal experiments—Reduction (of animal use)

Refinement (to lessen pain or distress and to enhance animal well-being)

Replacement (of an animal test with one that uses non-animal systems or phylo-genetically

lower species  
(OECD GD34)

## 何なりと質問して下さい。

News

## 恥ずかしがらず、あなたが聞きたい

☞【NEW】news texts dummy texts news texts dummy texts

news texts dummy texts (2009.7.16)

☞news texts dummy texts news texts (2009.7.3)

☞news texts dummy texts news texts dummy texts news

texts dummy texts (2009.7.3)

☞About JaCVAM

Message from JaCVAM / Policy and Mission of JaCVAM /

Organization of JaCVAM / Glossary /

Proposal for Engagement Rules

☞JaCVAM Activities