

LRIシンポジウム

「*in vitro*、*in silico*はどこまで*in vivo*
に近付けるか？」

NIHSの立場で



小島 肇

国立医薬品食品衛生研究所

本発表は個人的な見解であり、JaCVAMや
NIHSの見解ではありません。

動物実験代替法という用語

動物実験代替法(Alternative to Animal Testing,以下、代替法と記す)とは、動物実験の3Rs(Reduction: 削減、Refinement: 苦痛の軽減、Replacement: 置換え)を指す用語であり、動物実験を認めることを前提にしている。皆さんが「代替法」と意識されている試験法とは、“置換え”である。この場合は、*in vitro*試験あるいはAlternative non-animal test(動物を用いない代替法)という場合が多い。

動物実験の国際的流れ

- 国際的な動物実験の施行は、3Rsの原則（動物実験代替法）を基盤とすべきとなった。
- Replacement(置換)、Reduction(削減)の実効は当初、化粧品で本格化した。
- 3Rsは医薬品（ICH）、医療機器（ISO）、化学製品等（REACH）の安全性試験、医学研究（OIE, EU Directive, ILAR Guide, CIOMS）にも拡大している。

NEWS EUROPE

[Home](#) | [UK](#) | [Africa](#) | [Asia](#) | [Europe](#) | [Latin America](#) | [Mid-East](#) | [US & Canada](#) | [Business](#) | [Health](#) | [Sci/Environment](#)

11 March 2013 Last updated at 17:23 GMT



EU bans sale of all animal-tested cosmetics

A complete ban on the sale of cosmetics developed through animal testing has taken effect in the EU.

The ban applies to all new cosmetics and their ingredients sold in the EU, regardless of where in the world testing on animals was carried out.

The 27 EU countries have had a ban on such tests in place since 2009. But the EU Commission is now asking the EU's trading partners to do the same.

Animal rights lobbyists said EU officials had "listened to the people".

The **anti-vivisection group BUAV** and the **European Coalition to End**



GETTY IMAGES

The search for alternatives to animal testing goes on

Related Stories

**UK retains strict
animal test law**

Functioning of the Programme

- Work plan includes projects lead by member countries, updated and declassified annually.
- SPSF template for project proposal, available to NCs, concerns projects on:

New Test Guideline

Guidance document

Revised Test Guideline

Detailed Review Paper

Deletion of an existing Test Guideline

Other, specify:

- Regulatory need
 - Animal welfare
 - Cost effectiveness
- } main motivations for projects

2014年に成立した試験法

Method	Lead Country	International acceptance
<i>In vivo</i> Mammalian Alkaline Comet Assay	Japan	TG489(2014)
<i>In vitro</i> Micronucleus Test	Canada	Updated TG487 (2014)
Mammalian Bone Marrow Chromosomal Aberration Test	Canada	Updated TG475 (2014)
Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test	Canada	Updated TG474 (2014)
<i>In vitro</i> Mammalian Chromosome Aberration Test	Canada	Updated TG473 (2014)
<i>In vitro</i> Skin Corrosion: Reconstructed Human Epidermis (RHE) Test Method : epiCS	German	Updated TG431 (2014)
<i>In vitro</i> Skin Sensitisation: ARE-Nrf2 Luciferase Test Method	EU	TG442D(2014)
<i>In Chemico</i> Skin Sensitisation: Direct Peptide Reactivity Assay (DPRA)	EU	TG442C(2014)

2015年に成立したまたは成立予定の試験法

Method

TG 491: Short-Time Exposure for the detection of chemicals causing Serious Eye Damage and chemicals Not Requiring Classification for Serious Eye Damage or Eye Irritation

TG 492: Reconstructed Human Corneal Epidermis for the Detection of Chemicals Not Requiring Classification and Labelling for Eye Irritation or Serious Eye Damage

TG 491: *In vitro* Thymidine Kinase mutation Test

TG 493: Estrogen Receptor Binding Assay

GD:*In vitro* Carcinogenicity: Cell Transformation Assay Bhas 42 Assay

GD:*In vitro* Carcinogenicity: Syrian Hamster Embryo (SHE) Cell Transformation Assay

2015年に改訂された試験法

Method
Updated TG 404: Acute Dermal Irritation/Corrosion
Updated TG 421: Reproduction/Development Toxicity Screening Test
Updated TG 422: Combined Repeated Dose Toxicity Study with the Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test
Updated TG 430: <i>In vitro</i> Skin Corrosion: Transcutaneous Electrical Resistance Test Method (TER)
Updated TG 431: <i>In vitro</i> skin corrosion (Human Skin Model Test)
Updated TG 435: <i>In vitro</i> Membrane Barrier Test Method for Skin Corrosion
Updated TG 439: <i>In vitro</i> Skin Irritation - Reconstructed Human Epidermis Test Method
Updated TG 455: The Stably Transfected Human Estrogen Receptor-alpha Transcriptional Activation Assay for Detection of Estrogenic Agonist-Activity of Chemicals
Updated TG 476: <i>In vitro</i> Mammalian Cell Gene Mutation Test
Updated TG 478: Rodent Dominant Lethal Test
Updated TG 483: Mammalian Spermatogonial Chromosome Aberration Test

2015年に成立する予定の日本提案のOECD TG案

- Cell Transformation Assay Bhas 42 Assay
- Eye Irritation Test: Short Time Exposure (STE) Assay
- Endocrine Disruptor Screening: Stable Transfected Transcriptional Activation (STTA) Antagonist Assay

2015年に作業計画に載った試験法

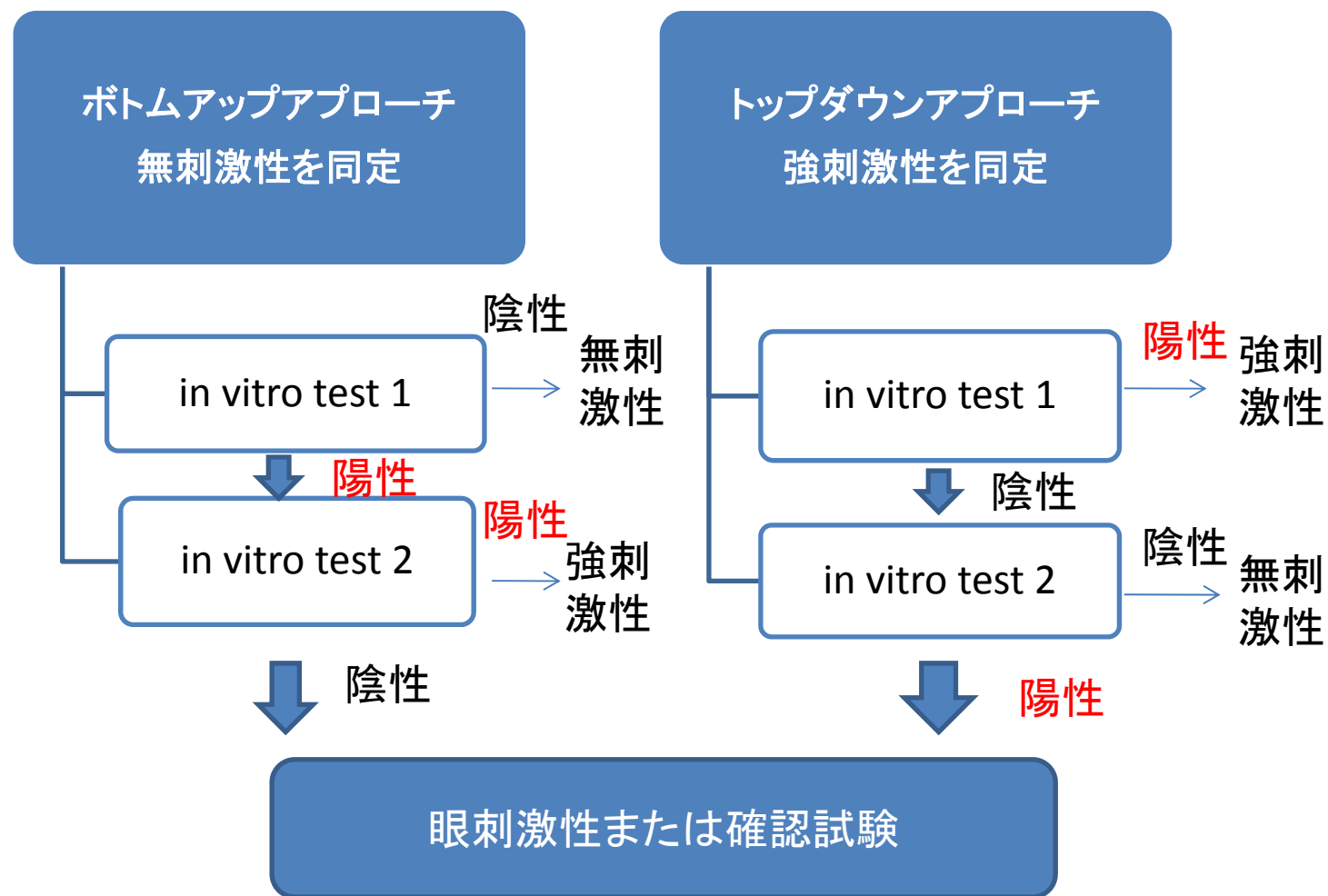
United States	GD IATA on Eye irritation/corrosion	Approved
France	RhCE test method using SkinEthic for Eye	Approved
Italy	In vitro Macromolecular Test Method for identifying Chemicals inducing serious eye damage	Approved
Netherlands	Extension of the ICE (TG 438)	Approved
Netherlands	Revision of GD 160 on BCOP and ICE: collection of tissue for histological evaluation	Approved
France	MUSST for in vitro skin sensitisation	Approved
Japan	IL-8 Luc assay for in vitro skin sensitisation	Conditionally approved
United States	Pig-A genetox TG	Approved
European Commission	New GD on genotoxicity testing of nanomaterials	Approved
United Kingdom	IATA document on non-genotoxic carcinogens	Approved
Denmark	Feasibility study for minor enhancements of TG414	Approved
United Kingdom	Development of a reference/characterising chemical set for testing <i>in vitro</i> metabolism systems in EAS assays	Approved
Korea	Androgen Receptor Transactivation Assay	Approved
United Kingdom/Netherlands	Cross-species concordance and difference for in vitro extrapolation	Approved
United States	GD on AOPs for E, A, T pathways	Approved
United Kingdom	Case studies on Integrated Risk Assessment for illustrating cross-species linkages in the Conceptual Framework	Approved
Sweden	DRP on retinoic acid	Approved

OECD作業計画にある日本から提案されたテストガイドライン案

- Skin sensitization assay h-CLAT assay
- IL-8 reporter gene assay for skin sensitization testing (今年度に計画として承認された)
- Androgen disruptor screening Stable transfected transcriptional activation (STTA) assay (AR-Ecoscreen)

動物を用いない代替法の開発状況

- 開発されている動物を用いない代替法は、皮膚刺激性、光毒性、遺伝毒性および眼刺激性試験に限られる。
- 正確性が良くても、偽陰性の多い方法は認められない。偽陽性も多い。
- 単独試験法で有害性を担保できる*in vitro*試験はない。



眼刺激性評価における*in vitro*試験の組合せ

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

Alternative (non-animal) methods for cosmetics testing: current status and future prospects-2010. [Adler S](#), et al.,

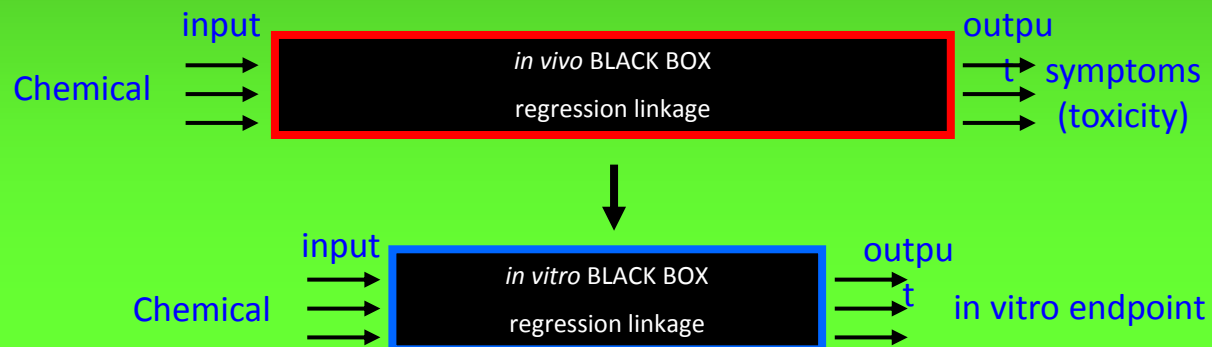
In summary, the experts confirmed that it will take at least **another 7-9 years** for the replacement of the current in vivo animal tests used for the safety assessment of **cosmetic ingredients** for **skin sensitisation(皮膚感作性)**.

For **toxicokinetics(トキシコキネテックス)**, 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.

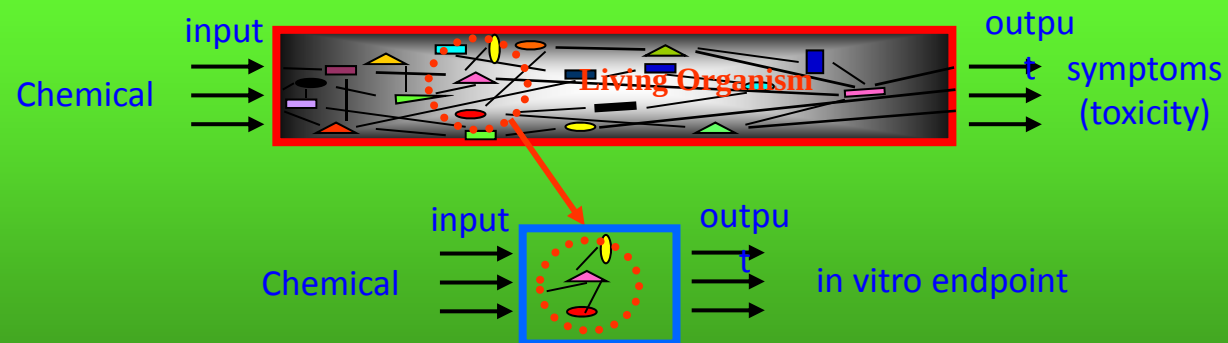
For the systemic toxicological endpoints of **repeated dose toxicity(反復投与毒性)**, **carcinogenicity(発癌性)** and **reproductive toxicity(生殖毒性)**, the time horizon for full replacement **could not be estimated**.

動物モデルと*in vitro*

(1) Miniature BlackBox Approach

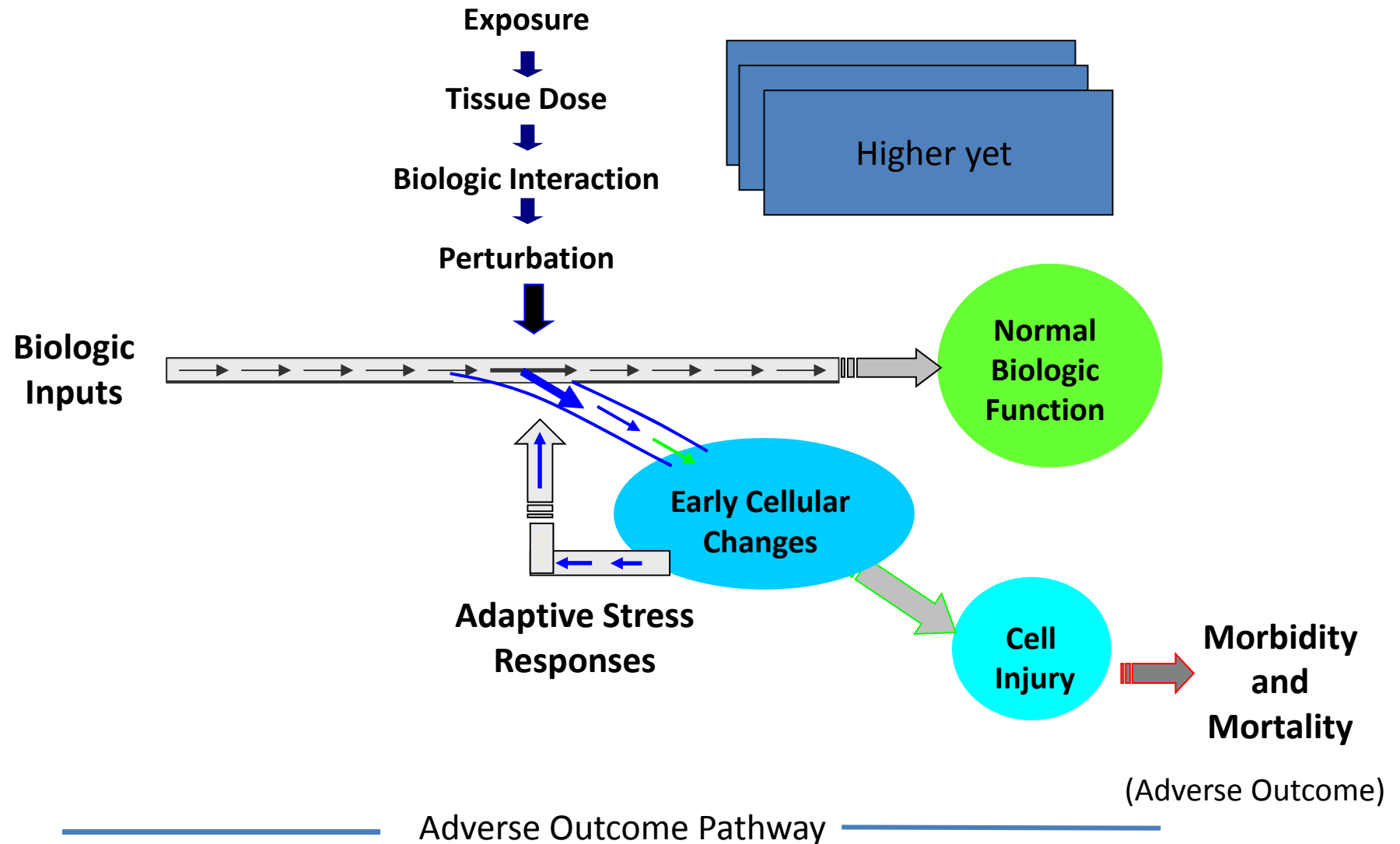


(2) *In vivo* mechanism Excision Approach

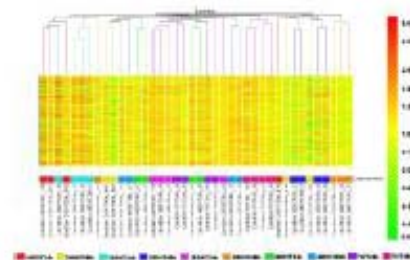
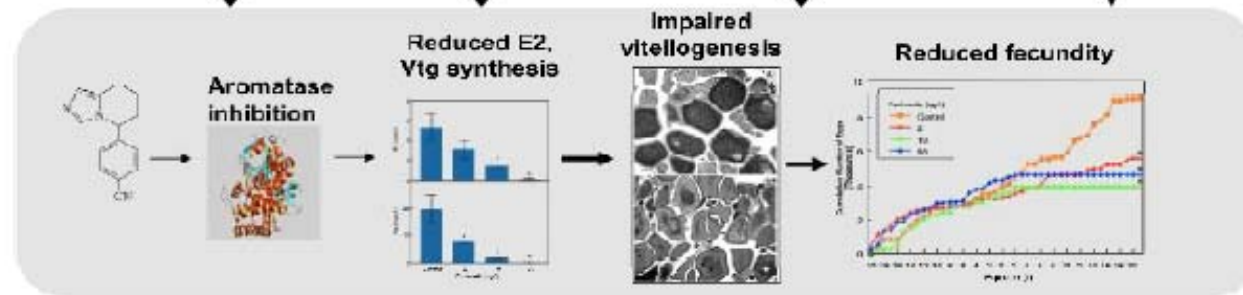
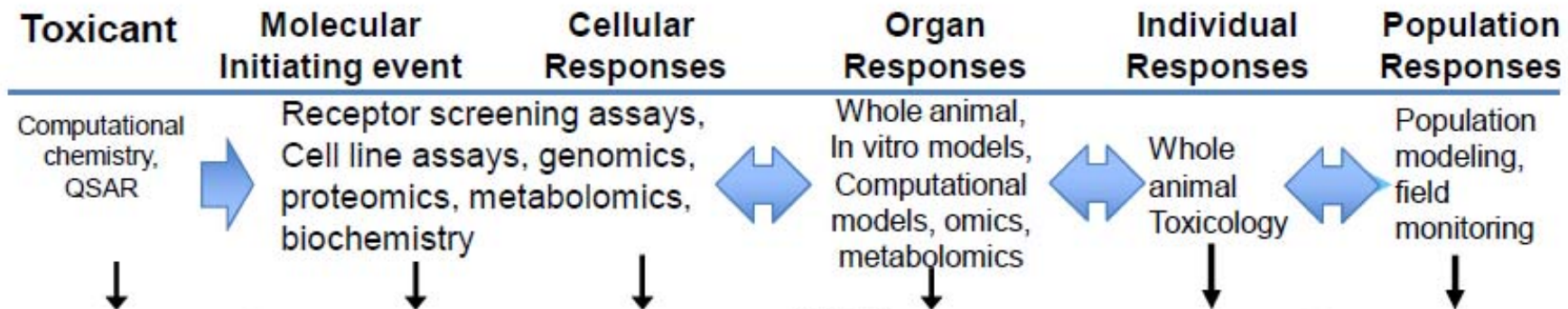


- (1) Miniature BlackBox Approach requires “diagnostic” process similar to *in vivo* studies. Until cellular symptoms are well understood to the level of *in vivo* diagnosis, the validation process will be virtually endless.
- (2) Mechanism-excision type methods always have Positive controls and Negative controls. With which the validation process is easy and concise.

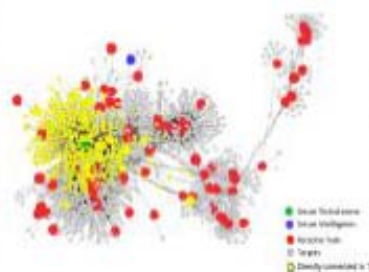
Perturbation of Toxicity Pathways



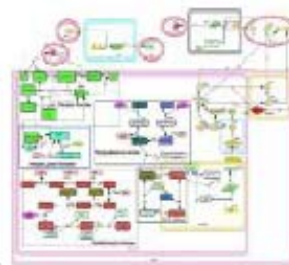
AOP and alternative animals in human health assessment



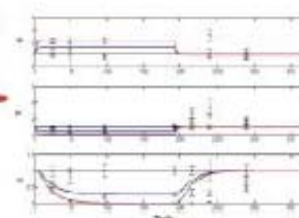
Screening for toxicological effects and chemicals



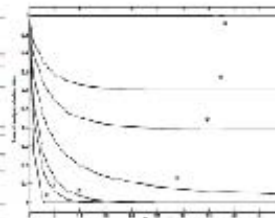
Pathway and network impacts



Mechanistic modeling

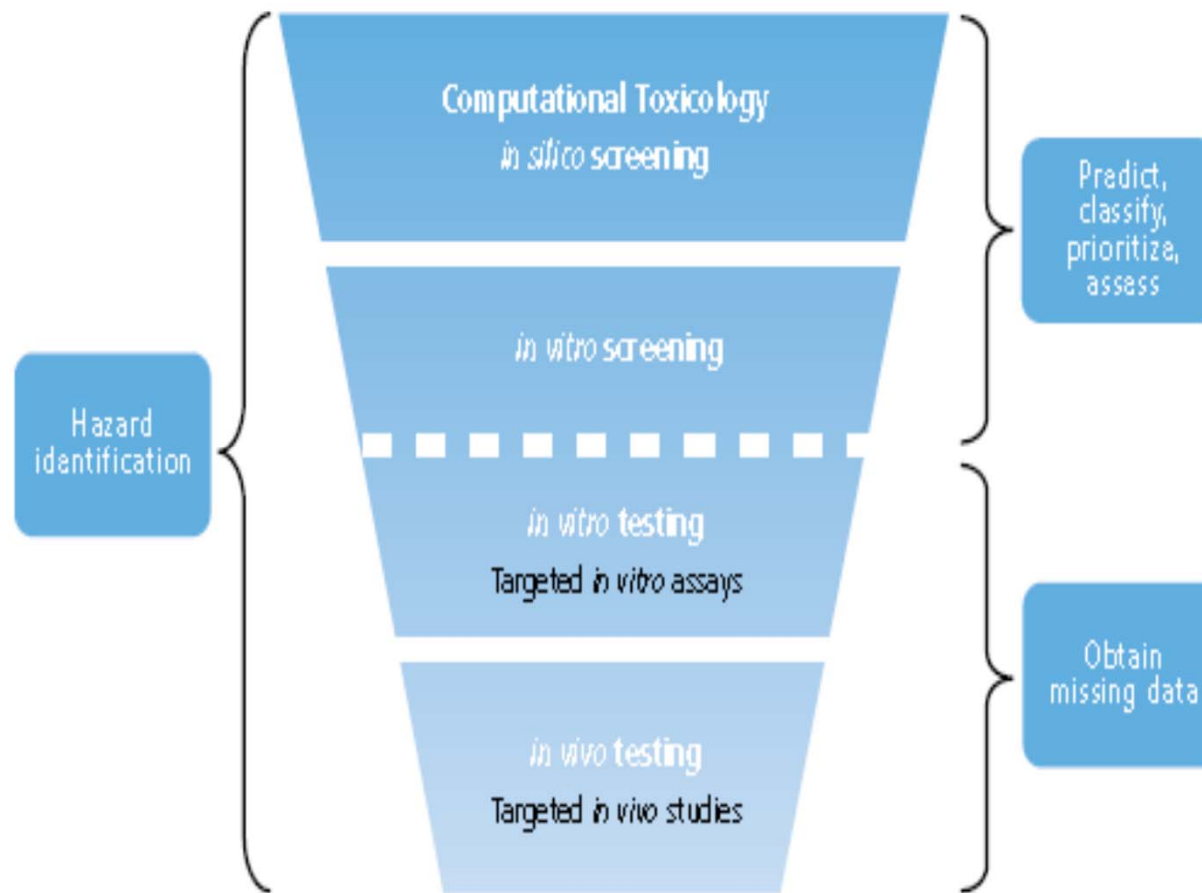


Predicted effect



Population impact

GUIDANCE DOCUMENT ON THE EVALUATION AND APPLICATION OF **INTEGRATED APPROACHES TO TESTING AND ASSESSMENT (IATA)** FOR SKIN SENSITISATION



小括

- OECDは毒性毎にAOPの構築を促している。
- OECDはAOPを参考に、MoA(作用機構)に立脚したTGの開発を促そうとしている。
- 一つひとつのTGではsystematic toxicologyを予測することは不可能である。OECDはIATA開発もTG開発とセットと認識している。

JaCVAMの視点

- 試験法の公定化の有無を問わず、開発された方法は再現性と予測性が高くなければならない。その評価作業をする機関としては、有用な*in vitro*、*in silico*が開発されることに期待している、

NIHSの視点

- レギュラトリーサイエンスの実践のためには、品質、有効性及び安全性を科学的知見に基づき適正かつ迅速に予測、評価する手段として、適正な試験法によって実験されることが重要である。

安全性予測評価部

第一室
小野敦室長

第二室
小島 肇室長

広瀬部長

第三室
森田 健室長

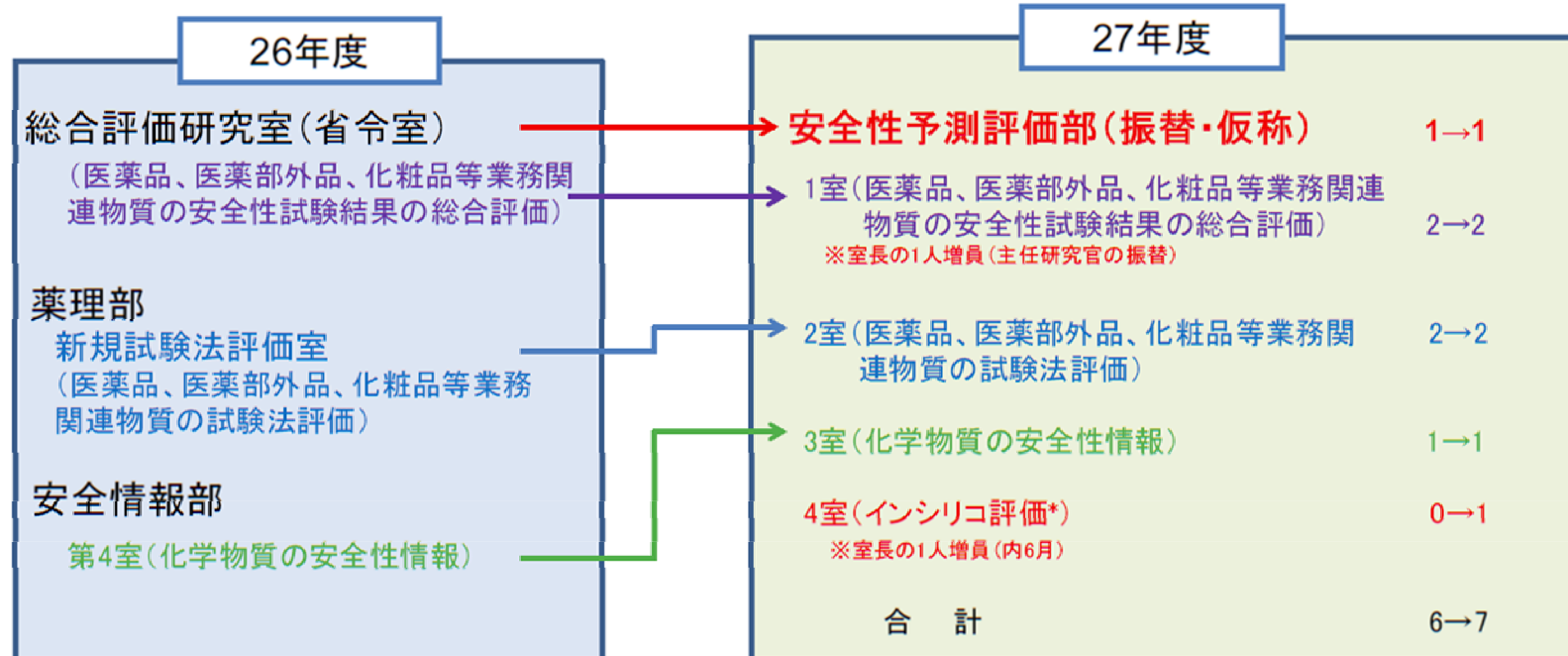
第四室
？ ？ ？

安全性予測評価部の業務

医薬品等レギュラトリーサイエンス研究の充実・強化

国立医薬品食品衛生研究所
現行医薬品等の安全性評価対応部門

平成27年度機能強化＝**安全性予測評価部(仮称)**
の新設



平成27年4月1日付 *については平成27年10月1日付

各関係機関の長殿

国立医薬品食品衛生研究所長
(公印省略)

安全性予測評価部第四室長の公募について

謹啓 時下ますます御清祥のこととお慶び申し上げます。

この度、当所安全性予測評価部において第四室長を公募することになりました。つきましては、御多忙中のところ誠に恐縮とは存じますが、貴機関関係者に周知くださるようお願い申し上げます。

謹白

記

1. 職名(官職・適用俸給表)

安全性生物試験研究センター安全性予測評価部第四室長(厚生労働技官・研究職)

2. 業務内容

安全性予測評価部においては、安全性生物試験研究センターにおいて所管している化学物質、食品、医薬品等の安全性評価研究において、化学物質、食品、医薬品等に含まれる物質〔以下「関連物質」という。〕に関する安全性試験結果に基づく総合的な安全性予測及び評価、動物実験代替法の評価、化学物質の安全性に関する情報の収集等及びこれに必要な情報の調査並びにこれらに必要な研究を行っている。

本年10月に設置される安全性予測評価部第四室では、関連物質について定量的構造活性相関等のインシリコ評価技術を用いた毒性予測・評価手法の開発に関する研究、並びにこれらに必要な研究を行う予定である。

今回募集する第四室長は、上記所掌に関する試験研究を遂行すると共に、それらの技術を用いて国内外の機関と連携し、関連物質の毒性予測研究及び安全性評価研究を実施又は統括する。

3. 応募資格

- (1) 薬学系、化学系、生命科学系等の関連研究領域において博士の学位取得後、概ね10年以上の研究経験を有すること。又はそれに準ずる業務経験を有すること。
- (2) 化学物質等のリスク評価において、定量的構造活性相関手法等のインシリコ技術を活用した毒性評価手法の開発に関する専門的知識及び研究経験並びに関連する研究業績があること。
- (3) 関連物質のリスク評価に必要な毒性学的知識を有することが望ましい。
- (4) インシリコ等の手法を使った関連物質のリスク評価に関する研究業務を主導的に推進し、かつ、統括する能力を有すること。
- (5) 国立試験研究機関における研究業務の意義と役割を理解し、リスク評価に関連する各種委員会に参画し、厚生労働行政への対応に積極的に取り組む意欲を有していること。
- (6) 外国人との専門分野の打ち合わせ、討論を行うに足る英語力を有すること。



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



Search



www



jaovam.jp



About JaCVAM



Update on JaCVAM



Academic activities



Submission of Alternative
Methods to JaCVAM



International Cooperation

御静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)

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