

日本動物実験代替法評価センター（JaCVAM）平成26年度報告書

小島肇夫、西川秋佳

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 日本動物実験代替法評価センター

要旨

2014年、JaCVAM（日本動物実験代替法評価センター）はその評価会議が認めた2つの試験法を行政機関に提案した。それらは、眼刺激性試験代替法 鶏摘出眼球試験（ICE法）および *In Chemico* 皮膚感作性試験ペプチド結合試験である。

さらに、JaCVAMは経済協力開発機構の試験法ガイドラインである遺伝毒性試験 *in vivo* コメットアッセイの試験法ガイドラインNo.489の成立に寄与した。OECDの作業計画では、日本は以下の5試験を提案している。1) Bhas 42 形質転換試験 2) 眼刺激性試験代替法 短時間曝露法 (STE: Short time exposure)、3) 皮膚感作性試験代替法 h-CLAT (Human Cell Line Activation Test)、4) ヒトエストロゲン受容体- α の転写活性化アッセイアンタゴニスト法および 5) ヒトアンドロゲン受容体結合による活性化・拮抗作用物質を検出する試験 AR-EcoScreenである。さらに、JaCVAMでは国際協調を通して、複数の試験法のバリデーションや第三者評価を進めている。それらには、AR-Ecoscreen、発生毒性スクリーニング Hand1-Luc EST *in vitro* 皮膚感作性試験 IL-8 Luc アッセイ、および眼刺激性試験 SIRC-CVS、Vitrigel-EIT である。

1. 序論

日本動物実験代替法評価センター (JaCVAM : Japanese Center for the Validation of Alternative Methods) の平成26年度の成果を年次報告としてまとめた。

2. 成果

JaCVAM では、代替法国際協調 (ICATM : International Cooperation on Alternative Test Methods) の協力を得て、眼刺激性、皮膚刺激性、皮膚感作性試験などの代替法について、バリデーションや第三者評価を実施し、経済開発協力機構 (OECD : Organisation for Economic Co-operation and Development) 等の試験法ガイドラインを目指している。これらの情報は JaCVAM ホームページで逐次更新しており、興味のある方は最新情報を入手してほしい¹⁾。

2-1 JaCVAM 評価会議報告書

以下の試験法の提案を厚生労働省医薬食品局審査管理課および医薬食品局審査管理課化学物質安全対策室に報告した。

- 1) 新規試験法提案書 2013年改訂 OECD TG 438 ニワトリの摘出眼球を用いた眼刺激性試験 (ICE法: Isolated Chicken Eye Test) (平成27年1月)
- 2) 新規試験法提案書 皮膚感作性試験代替法ペプチド結合性試験 (DPRA: Direct Peptide Reactivity Assay) (平成27年3月)

2-2 OECD および ICH テストガイドライン

2014 年 OECD はヒト健康に関する 8 つのテストガイドラインを成立させた (400 番台のテストガイドライン)²⁾。5 試験法は遺伝毒性試験のテストガイドラインであり、2 試験法は皮膚感作性試験代替法であり、1 試験法は腐食性試験代替法の改良である。このうち、JaCVAM は OECD Test Guideline No. 489, *In Vivo Mammalian Alkaline Comet Assay* (*In Vivo* コメットアッセイ：平成 26 年 9 月) の開発に深く関与した。この他、OECD 作業計画には、日本から提案した試験法として、以下の 5 試験法が検討されている。

1) Bhas 42 形質転換試験 2) 眼刺激性試験代替法 短時間曝露法 (STE: Short time exposure)、3) 皮膚感作性試験代替法 h-CLAT (Human Cell Line Activation Test)、4) ヒトエストロゲン受容体- α の転写活性化アッセイアンタゴニスト法および 5) ヒトアンドロゲン受容体結合による活性化・拮抗作用物質を検出する試験 AR-EcoScreen である。

活性酸素種 (ROS: Reactive Oxygen Species) を指標とした光毒性試験が収載された日米 EU 医薬品規制調和国際会議 (ICH:International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use) S10 医薬品の光安全性評価ガイドラインについてが厚生労働省医薬食品局審査管理課長より、平成 26 年 5 月 21 日に発出された (薬食審査発 0521 第 1 号)。

2-3 化粧品・医薬部外品の安全性評価に活用するためのガイダンスについて⁴⁾

厚生労働省医薬食品局審査管理課 事務連絡：眼刺激性試験を化粧品・医薬部外品の安全性評価に活用するための留意事項について (平成 27 年 2 月 27 日) をまとめた。

2-4 国際的な第三者評価

- 1) 皮膚感作性試験代替法 h-CLAT については、EURL ECVAM (the European Union Reference Laboratory for alternatives to animal testing) のバリデーションを経て^{5,6)}、ECVAM 科学諮問会議 (ESAC : ECVAM Scientific Advisory Committee) による国際的な第三者評価が終了し、recommendation が 2015 年 (平成 27 年) 3 月 2 日に発表された。
- 2) 東北大 相場らの開発した皮膚感作性試験代替法 IL-8 Luc アッセイについては、JaCVAM 主導による国際的な第三者評価が実施された。
- 3) 眼刺激性試験代替法 細胞毒性試験 SIRC-CVS (Crystal Violet Staining) については、JaCVAM 主導による国際的な第三者評価が実施された。

2-5 バリデーション

- 1) 住友化学が開発した生殖発生毒性スクリーニング Hand1-Luc EST 法については、経済産業省主導で実施中のバリデーションを支援した。
- 2) 眼刺激性試験代替法 Vitrigel-EIT (Eye Irritation Test) については、農業生物資源研究所主導で開始されたバリデーションを支援した。
- 3) 皮膚感作性試験代替法 IL-8 Luc アッセイについては、バリデーション報告書が作成された。
- 4) 眼刺激性試験代替法 細胞毒性試験 SIRC-CVS については、バリデーション報告書が作成された。
- 5) ヒトエストロゲン受容体- α の転写活性化アッセイ アゴニスト法 TG455 については、アンタゴニス

トの評価系も加えるべく、バリデーション報告書が作成された。

6) AR-EcoScreen については、経済産業省主導でのバリデーション実験が終了し、報告書が作成されている。

2-6 ICATM 対応試験

EURL ECVAM からの依頼で、h-CLAT およびZebrafish Embryo Acute Toxicity Test Method (ZFET) Recommendationにコメント対応するとともに、strategy for toxicokinetics and systemic toxicityにもコメントした。平成26年10月にイスプラ（イタリア）にて開催されたESAC第40回会議において、CYP induction assay based on two human-derived hepatocellular test systems、眼刺激性試験代替法EpiOcularのバリデーション研究 および皮膚腐食性試験epiCS の性能標準バリデーション研究の第三者評価についての議論に参加した。

平成26年9月にリサーチトライアングル市（ノースカロライナ州、米国）で開催された米国動物実験代替法省庁間連絡会議（ICCVAM : Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods (ICCVAM) 科学諮問会議（Scientific Advisory Committee on Alternative Toxicological Methods : SACATM)に参加するとともに、ICATM調整会議に参加した。

韓国動物実験代替法評価センター（KoCVAM : Korean Center for the Validation of Alternative Methods)の要請により、平成26年10月に開催された韓国動物実験代替法学会の会期中に、JaCVAM のバリデーション手順について説明し、バリデーションの進め方について助言した。

3. JaCVAM の外部評価

JaCVAMの運営とその計画および成果について、1年に1回以上の頻度で運営委員会から報告を受け、それらについて審議し、助言する顧問会議を持った。

4. 総括

本年度は、JaCVAM が主導で進めてきた OECD Test Guideline No. 489, *In Vivo* コメットアッセイに関する OECD テストガイドラインの開発に貢献するとともに、JaCVAM 評価会議にて2つの試験法の評価を終了できた。今後も本年度のような成果を継続していく予定である。

謝辞

すべての JaCVAM 協力者の皆様にこの場をお借りして感謝致す。本活動は、厚生労働本省試験研究所試験研究費「健康安全確保のための研究費：国際的動向に対応する新規安全性試験法およびその評価手法の開発」の支援を受けて実施された。

参考文献

1) JaCVAM (2015) Available at: <http://jacvam.jp/>

2) OECD test guideline (2015) Available at:

http://www.oecd.org/document/40/0,3746,en_2649_34377_37051368_1_1_1_1,00.html

3) 医薬品の光安全性評価ガイドライン (2015) http://www.pmda.go.jp/ich/s/s10_14_5_21.pdf

4) 独立行政法人 医薬品医療機器総合機構 (2015)

<http://www.pmda.go.jp/operations/shonin/info/iyakubugai.html>

5) OECD WORK PLAN FOR THE TEST GUIDELINES PROGRAMME (2015) Available at:

[http://www.oecd.org/officialdocuments/displaydocumentpdf/?cote=ENV/JM/TG\(2014\)47&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/displaydocumentpdf/?cote=ENV/JM/TG(2014)47&doclanguage=en)

6) OECD Series on Testing and Assessment / Adopted Guidance and Review Documents (2015) available at :

http://www.oecd.org/document/30/0,3746,en_2649_34377_1916638_1_1_1_1,00.html

7) EURL ECVAM recommendation (2015)

http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_labs/eurl-ecvam/eurl-ecvam-recommendations