

日本動物実験代替法評価センター（JaCVAM）平成 27 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

2015 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 3 つの試験法を行政機関に提案した。それらは、皮膚感作性試験代替法角化細胞株レポーターアッセイの新規試験法、光安全性評価法 ROS アッセイの新規試験法および眼刺激性試験代替法 STE 法の新規試験法の提案書である。一方、JaCVAM は経済協力開発機構（OECD）の試験ガイドライン（TG）およびガイダンスとして、OECD Test No. 491: Short Time Exposure In Vitro Test Method for Identifying i) Chemicals Inducing Serious Eye Damage and ii) Chemicals Not Requiring Classification for Eye Irritation or Serious Eye Damage、OECD Test No. 455: Performance-Based Test Guideline for Stably Transfected Transactivation In Vitro Assays to Detect Estrogen Receptor Agonists and Antagonists および OECD Series on Testing & Assessment No. 231: Guidance Document on the In Vitro Bhas 42 Cell Transformation Assay の成立に寄与した。この他、OECD の作業計画では、日本は以下の 3 試験を提案している。1)皮膚感作性試験代替法 h-CLAT（Human Cell Line Activation Test）、2)皮膚感作性試験代替法 IL-8 Luc アッセイおよび 3)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、発生毒性スクリーニング Hand1-Luc EST、皮膚感作性試験 IL-8 Luc アッセイ、眼刺激性試験代替法 SIRC-CVS、Vitrigel-EIT および LabCyte Cornea-model24- EIT が該当する。

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 27 年度の成果を年次報告としてまとめた。

2. 成果

JaCVAM では、バリデーションや第三者評価を通じて評価された代替法について、行政的受入れの適否及びその適用可能な範囲を明確にし、公表している。一方で、代替法国際協調（ICATM : International Cooperation on Alternative Test Methods）の協力を得て、日本で開発された眼刺激性、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経て、経済開発協力機構（OECD : Organisation for Economic Co-operation and Development）等の試験ガイドラインを目指してきた。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¹⁾

以下の試験法の評価を実施し、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

質安全対策室に提案書を報告した。

- 1) 皮膚感作性試験代替法角化細胞株レポーターアッセイの新規試験法（平成 28 年 1 月）
- 2) 光安全性評価法 ROS アッセイの新規試験法（平成 28 年 1 月）
- 3) 眼刺激性試験代替法 STE 法の新規試験法（平成 28 年 3 月）

2-2 OECD 試験ガイドライン (TG: Test Guideline)

2015 年 OECD はヒト健康に関する 14 つの TG を成立させた (400 番台の TG)²⁾。このうち、JaCVAM は、以下の日本で開発された TG およびガイダンスの開発に深く関与した。

- 1) OECD Test No. 491: Short Time Exposure In Vitro Test Method for Identifying i) Chemicals Inducing Serious Eye Damage and ii) Chemicals Not Requiring Classification for Eye Irritation or Serious Eye Damage (2015.7.28)
- 2) OECD Test No. 455: Performance-Based Test Guideline for Stably Transfected Transactivation In Vitro Assays to Detect Estrogen Receptor Agonists and Antagonists (2015.7.28)
- 3) OECD Series on Testing & Assessment No. 231: Guidance Document on the In Vitro Bhas 42 Cell Transformation Assay (2016.1)³⁾。この他、OECD 作業計画には、日本から以下の 3 試験を提案している。1)皮膚感作性試験代替法 h-CLAT (Human Cell Line Activation Test)、2)皮膚感作性試験代替法 IL-8 Luc アッセイおよび 3) 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⁴⁾。

2-3 国際的な第三者評価

- 1) 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。
- 2) 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。

2-4 国際的なバリデーション

- 1) 住友化学株式会社が開発した生殖発生毒性スクリーニング Hand1-Luc EST (Embryo Stem cell Test) については、経済産業省および日本化学品工業協会の支援を受けた実施中のバリデーションの実験が終了した。
- 2) 眼刺激性試験代替法 Vitrigel-EIT (Eye Irritation Test) については、アグリヘルスプロジェクトの支援を受けた開始されたバリデーション報告書が作成された。
- 3) 眼刺激性試験代替法 LabCyte Cornea-model24-EIT については、日本動物実験代替法学会の支援を受けたバリデーション実験が終了した。
- 4) 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、経済産業省と厚生労働科学研究費の支援によるバリデーション報告書が作成された。
- 5) AR-EcoScreen については、経済産業省と厚生労働科学研究費の支援によるバリデーション報告書が作成された。

2-5 ICATM 対応

平成27年5月6日~7日にイスプラ (イタリア) にて開催された欧州動物実験代替法評価センター (EURL

ECVAM: EU Reference Laboratory for Alternatives to Animal Testing) 科学諮問会議 (ESAC : ECVAM Scientific Advisory Committee) 第41回会議において、EURL ECVAMが作成しているバリデーションガイダンスに関するワークショップに参加した。

平成27年6月23日に済州島 (韓国) で開催された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)が韓国の代替法に関する動向を発表し、バリデーションの進め方について議論した。

平成 27 年 9 月 30 日にノースカロライナ(米国)で開催された米国動物実験代替法評価センター (NICEATM: NTP Interagency Center for the Evaluation of Alternative Toxicological Methods) との協力会議にて、日米の代替法センターの現状が報告され、課題などについて話し合った。

平成 27 年 11 月 12 日～13 日にイスプラ (イタリア) で開催された ICATM 調整会議に参加した。これまでの日米欧加韓の専門家に加え、今回より中国とブラジルの関係者も参加した。各国より昨今の動向が報告されるとともに、新たな覚書の調印について意見交換がなされた。

2-6 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⁵⁾

JaCVAM評価書をもとに検討された眼刺激性試験代替法としてのニワトリ摘出眼球を用いた眼刺激性試験法 (ICE) を化粧品・医薬部外品の安全性評価に資するためのガイダンス」について (平成27年11月16日薬生審査発1116第3号) の作成に協力した。

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 評価会議にて3つの試験法の評価を終了するとともに、JaCVAM が主導で評価を進めてきた試験法の中で、OECD にて2つの TG および1つのガイダンスの承認に貢献することができた。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 (2016) Available at: <http://jacvam.jp/>

2) OECD test guideline (2016) Available at:

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

3) OECD Series on Testing and Assessment / Adopted Guidance and Review Documents (2016) available at :

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

4) OECD WORK PLAN FOR THE TEST GUIDELINES PROGRAMME (2016) 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)

5)独立行政法人 医薬品医療機器総合機構 (2016)

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