

# 日本動物実験代替法評価センター(JaCVAM)平成29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

2017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以下の5つの試験法を行政機関に提案した。

- 1) 経皮電気抵抗試験を用いた皮膚腐食性試験
- 2) ヒト表皮モデルを用いた皮膚腐食性試験
- 3) *In vitro*膜バリア試験を用いた皮膚腐食性試験
- 4) 眼刺激性試験 再構築ヒト角膜様上皮モデル法(RhCE法) SkinEthic™ HCE EIT
- 5) SHE細胞形質転換試験法(SHE CTA)

一方、JaCVAMは経済協力開発機構(OECD)の試験法ガイドライン(TG)として、日本で開発された皮膚感作性試験代替法 IL-8 Luc アッセイをTG442Eの中に掲載させることに寄与した。

この他、OECDの作業計画では、日本は以下の2試験を提案しており、2018年度以降の成立を目指している。

- 1) 眼刺激性試験 再構築ヒト角膜様上皮モデル法(RhCE法) LabCyte Cornea-model EIT
- 2) 光反応試験 Reactive Oxygen Species (ROS)アッセイ

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、免疫毒性スクリーニング Multi-ImmunoTox assay (MITA)、皮膚感作性試験、Amino acid Derivative Reactivity Assay (ADRA)、発生毒性スクリーニング Hand1-Luc EST (Embryonic Stem Cell Test)、眼刺激性試験 SIRC-CVS (Crystal Violet Staining) および Vitrigel-EIT (Eye Irritation Testing)、皮膚刺激性試験 LbL モデルが該当する。

## 1. 緒言

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29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およ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)等の試験法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<sup>1)</sup>。

### 2-1 JaCVAM 評価会議報告書<sup>1)</sup>

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) 経皮電気抵抗試験を用いた皮膚腐食性試験
- 2) ヒト表皮モデルを用いた皮膚腐食性試験
- 3) *In vitro*膜バリア試験を用いた皮膚腐食性試験
- 4) 眼刺激性試験 再構築ヒト角膜様上皮モデル法(RhCE法) SkinEthic™ HCE EIT
- 5) SHE細胞形質転換試験法(SHE CTA)

### 2-2 OECD 試験法ガイドライン(TG: Test Guideline)

2017年 OECD はヒト健康に関する6のTGを採択させた(400番台のTG)<sup>2)</sup>。JaCVAMは、新規にあたる日本で開発された以下のTGの開発に深く関与した。

OECD Test No. 442E: *In Vitro* Skin Sensitisation assays addressing the Key Event on activation of dendritic cells on the Adverse Outcome Pathway

for Skin Sensitisation, (iii) the Interleukin-8 Reporter Gene Assay or IL-8 Luc assay

この他、OECD作業計画には、日本から以下の2試験を提案している。

- 1) 眼刺激性試験 再構築ヒト角膜様上皮モデル法(RhCE法) LabCyte Cornea-model EIT(実際には、本試験法は、本報告書を投稿する前の2018年6月にOECDで採択されている)。
- 2) 光反応試験 Reactive Oxygen Species (ROS)アッセイ<sup>3)</sup>。

### 2-3 国際的な第三者評価

JaCVAM 主導による以下の試験法について、国際的な第三者評価が実施された。

- 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)
- 2) 眼刺激性試験 細胞毒性試験 SIRC-CVS (Crystal Violet Staining) および Vitrigel-EIT (Eye Irritation Test)
- 3) 富士フィルム株式会社が開発した皮膚感作性試験、ADRA (Amino Acid Derivative Reactivity Assay)

### 2-4 国際的なバリデーション

JaCVAM 支援による以下の試験法について、国際的なバリデーションが実施された。

- 1) 東北大にて開発された免疫毒性スクリーニング MITA (Multi-ImmunoTox assay)
- 2) 大阪大学にて開発された LbL モデルを用いた皮膚刺激性試験

### 2-5 ICATM 対応

2017年10月2~3日にウィンザー(カナダ)で開催されたカナダ動物実験代替法センターの設立に関するワークショップ(Workshop on the Canadian Centre for Alternatives to Animal Methods)に西川と小島が参加した。

2017年12月13~15日にイスプラ(イタリア)で開催された皮膚感作性のための確立された評価法に関するTGのプロジェクトについてのナショナルコーディネーター特別会議

(OECD Special Session of the WNT on the project Performance-Based Test Guideline on Defined Approaches for Skin Sensitisation) に小島が参加した。

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<sup>4)</sup>

JaCVAM評価書をもとに検討された「医薬部外品・化粧品の安全性評価のための複数の皮膚感作性試験代替法を組合せた評価体系に関するガイドンテ」について(平成30年1月11日薬生薬審発0111 第1号)の作成に協力した。

2-7 毒物劇物判定基準の改定について<sup>5)</sup>  
皮膚腐食性および眼等の粘膜に対する重篤な損傷の判定に代替法を用いる判定基準の改定(平成29年6月13日薬生薬審発0613 第1号)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. 人事異動

平成29年8月1日より、足利太可雄主任研究員がJaCVAMの事務局(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 安全性予測評価部第二室)に着任した。

また、平成30年3月31日を持って、西川センター長が国立医薬品食品衛生研究所を退職した。

### 5. 総括

本年度は、JaCVAM 評価会議にて5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TGの採択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 協力者の皆様はこの場をお借りして感謝します。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(2018) Available at: <http://jacvam.jp/>
- 2) OECD test guideline (2018) Available at: [http://www.oecd.org/document/40/0,3746,en\\_2649\\_34377\\_37051368\\_1\\_1\\_1\\_1,00.html](http://www.oecd.org/document/40/0,3746,en_2649_34377_37051368_1_1_1_1,00.html)
- 3) OECD WORK PLAN FOR THE TEST GUIDELINES PROGRAMME (2018) 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)
- 4) 独立行政法人 医薬品医療機器総合機構 (2018) Available at: <http://www.pmda.go.jp/operations/shonin/info/iyakubugai.html>
- 5) 厚生労働省医薬・生活衛生局 医薬品審査管理課長(2017) Available at: <http://www.nihs.go.jp/law/dokugeki/kijun.pdf>