

日本動物実験代替法評価センター(JaCVAM)平成30年度報告書

小島 肇夫, 足利 太可雄, 平林 容子

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

2018年、日本動物実験代替法評価センター(JaCVAM: Japanese Center for the Validation of Alternative Methods)はその評価会議が認めた以下の3つの試験法を行政機関に提案した。

- 1) *In Vitro* 皮膚感作性試験: U937 Cell Line Activation Test (U-SENS™)
- 2) AR STTA 法: AR-EcoScreen™ 細胞を用いたアンドロゲン受容体恒常発現系転写活性化試験法
- 3) 再構築ヒト角膜様上皮モデル法 (RhCE: Reconstructed human Cornea-like Epithelium法)
LabCyte CORNEA-MODEL24眼刺激性試験 (LabCyte CORNEA-MODEL24 EIT: Eye Irritation Testing)

一方、JaCVAMは経済協力開発機構(OECD: Organisation for Economic Co-operation and Development)の試験法ガイドライン(TG: Test Guideline)として、Reconstructed human Cornea-like Epithelium (RhCE) test method for identifying chemicals not requiring classification and labelling for eye irritation or serious eye damage: TG492の中に日本で開発されたLabCyte Cornea-model EITを収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6試験を提案しており、2019年度以降の成立を目指している。

- 1) 皮膚感作性試験 ADRA (Amino acid Derivative Reactivity Assay)
- 2) 光反応性試験 ROS (Reactive Oxygen Species)アッセイ
- 3) 発生毒性スクリーニング Hand1-Luc EST (Embryonic Stem Cell Test)
- 4) 眼刺激性試験代替法 Vitrigel-EIT
- 5) 腐食性試験代替法 LabCyte EPI-model24 SCT (Skin Corrosion Test)
- 6) 眼刺激性試験代替法 TG437 改定: 牛摘出角膜の混濁および透過性試験法 (BCOP: Bovine Corneal Opacity and Permeability test method) への病理学的評価の導入

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 MITA (Multi-ImmunoTox assay) IL-2 Luc アッセイおよび IL-1β アッセイ、眼刺激性試験 SIRC-CVS (Crystal Violet Staining)、皮膚刺激性試験 LbL モデルおよび皮膚感作性試験代替法 EpiSensA 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30年度の成果を年次報告としてまとめた。

2. 人事異動

平成30年4月1日付けで、安全性生物試験研究センター長として平林容子が着任し、同時にJaCVAMのセンター長を務めることになった。

3. 成果

JaCVAMでは、国際的に評価された代替試験法について、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、日本で開発された眼刺激性、皮膚感作性試験などの代替試験法について、代替法国際協調(ICATM: International Cooperation on Alternative Test Methods)の協力を得て、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として採択されるための国際バリデーション研究やその結果の第三者評価を担ってきた。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⁾。

3-1 JaCVAM 評価会議報告書¹⁾

JaCVAM 評価会議において、以下の試験法の評価を実施し、その結果を評価書としてとりまとめ、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として提出した。

- 1) *In Vitro* 皮膚感作性試験: U937 Cell Line Activation Test (U-SENSTM)
- 2) AR STTA 法: AR-EcoScreenTM 細胞を用いたアンドロゲン受容体恒常発現系転写活性化試験法
- 3) 再構築ヒト角膜様上皮モデル法 (RhCE法) LabCyte CORNEA-MODEL24眼刺激性試験 (LabCyte CORNEA-MODEL24 EIT: Eye Irritation Test)

3-2 OECD 試験法ガイドライン (TG: Test Guideline)

2018年 OECD はヒト健康に関する6試験法のTGを採択した(400番台のTG)²⁾。JaCVAMは、このうち以下の日本で開発された新規TGの採択に深く関与した。

OECD Test No. 492: Reconstructed human Cornea-like Epithelium (RhCE) test method for identifying chemicals not requiring classification and labelling for eye irritation or serious eye damage

この他、2018年のOECD作業計画には、日本から以下の6試験法の提案が含まれているⁱ⁾。

- 1) 皮膚感作性試験 ADRA (Amino acid Derivative Reactivity Assay)
- 2) 光反応性試験 ROS (Reactive Oxygen Species) アッセイ
- 3) 発生毒性スクリーニング Hand1-Luc EST (Embryonic Stem Cell Test)
- 4) 眼刺激性試験代替法 Vitrigel-EIT
- 5) 腐食性試験代替法 LabCyte EPI-model24 SCT (Skin Corrosion Test)
- 6) 眼刺激性試験代替法牛摘出角膜の混濁および透過性試験法 (BCOP: Bovine Corneal Opacity and Permeability test method) への病理学的評価の導入

3-3 国際的な第三者評価

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

- 1) 東北大学にて開発された免疫毒性スクリーニング MITA (Multi-ImmunoTox assay) IL-2 Luc アッセイ
- 2) 眼刺激性試験 細胞毒性試験 SIRC-CVS (Crystal Violet Staining)

3-4 国際的なバリデーション

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

- 1) 東北大学にて開発された MITA IL-1 β アッセイ
- 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
- 3) 花王株式会社にて開発された皮膚感作性試験代替法 EpiSensA

3-5 ICATM 対応

2018年10月23~24日にイスプラ(イタリア)で開催された ICATM Workshop on Validation Towards Internationally Recognised Standards for Regulatory Application および同25日に開催されたICATM会議に平林と小島が参加した。今後のバリデーションの在り方について議論がなされた。

3-6 化粧品・医薬部外品の安全性評価に活用するためのガイドンスについて⁴⁾

「医薬部外品・化粧品の安全性評価における眼刺激性試験代替法としてのウサギ角膜由来株化細胞を用いた短時間暴露法(STE法)に関するガイドンスについて」(薬生薬審発 1218 第1号 平成 30 年 12 月 18日)の作成に向け資料を提供した。

4. 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。

5. 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 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 協力者の皆様に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 (2019) Available at: <http://jacvam.jp/>
- 2) OECD test guideline (2019) Available at: 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 (2019) Available at: [http://www.oecd.org/official-documents/displaydocumentpdf/?cote=ENV/JM/TG\(2014\)47&doclanguage=en](http://www.oecd.org/official-documents/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 (2019) Available at: <http://www.pmda.go.jp/operations/shonin/info/iyakubugai.html>

ⁱ なお、1)、2)、4)、5)の試験法は 2019 年 6 月末の時点で TG として採択されている。

表1. JaCVAMが認証した試験法および検討中の試験一覧

分類	試験名	バリデーション研究	専門家による第三者評価	テストガイドライン	JaCVAM 評価会議等	行政への提案
01 腐食性試験	01 ヒト表皮試験 (Vitrolife-skin™)	国立衛研& 代替法学会	JaCVAM		2008年6月	2008年8月
	02 ヒト表皮試験 (EpiSkin™, EpiDerm™ SCT, SkinEthics™ RHE, epiCS®)	EURL ECVAM	EURL ECVAM & ICCVAM	OECD TG No. 431	2017年5月	2017年6月
	03 経皮電気抵抗試験	EURL ECVAM	EURL ECVAM & ICCVAM	OECD TG No. 430	2017年8月	2017年10月
	04 In vitro 膜バリア試験	EURL ECVAM	EURL ECVAM & ICCVAM	OECD TG No. 435	2017年8月	2017年10月
	05 ヒト表皮試験 LabCyte EPI-MODEL24 SCT	J-TEC	JaCVAM	OECD TG No.431		
02 光毒性試験	01 3T3-NRU法	COLIPA/ EURL ECVAM	国立衛研	OECD TG No. 432		
	02 酵母-赤血球試験	国立衛研& 代替法学会	JaCVAM		2010年1月	保留
	03 ROSアッセイ	国立衛研& 製薬協	JaCVAM	ICH S10 OECD TG No. 495	2015年11月	2016年1月
	04 ヒト表皮試験	BfR	ESAC	OECD		
03 眼刺激性試験	01 BCOP法	EURL ECVAM & ICCVAM	EURL ECVAM & ICCVAM	OECD TG No. 437	2013年10月	2014年1月
	02 ICE法	EURL ECVAM & ICCVAM	EURL ECVAM & ICCVAM	OECD TG438	2014年10月	2015年1月
	03 FL法	EURL ECVAM & ICCVAM	EURL ECVAM	OECD TG No. 460	2012年10月	2012年12月
	04 CM法	EURL ECVAM	EURL ECVAM	OECD		
	05 STE法	国立衛研 & 花王	ICCVAM	OECD TG No. 491	2016年1月	2016年3月
	06 SIRC-CVS法	国立衛研 & 資生堂	JaCVAM			
	07 ヒト表皮試験 (MATREX法)	国立衛研				
	08 ヒト角膜試験 (EpiOcular™)	COLIPA/ EURL ECVAM	EURL ECVAM	OECD TG No. 492	2016年7月	2017年1月
	09 ヒト角膜試験 (SkinEthics™)	Loreal	EURL ECVAM	OECD TG No. 492	2018年3月	
	10 Vitrigel-EIT法	農水省	JaCVAM	OECD TG No. 494		
	11 ヒト角膜試験 (LabCyte CORNEA-MODEL24 EIT)	代替法学会	JaCVAM	OECD TG No. 492	2019年2月	2019年2月
	12 マクロモレキュラアッセイ	開発者	ESAC	OECD		
	13 OECD TG No.405 (2012)		ICCVAM review	OECD TG No. 405	2013年10月	2014年1月

● 終了 ● 進行中 ● 保留または中断 ● 未着手

分類	試験名	バリデー ション研究	専門家による 第三者評価	テスト ガイドライン	JaCVAM 評価会議等	行政への 提案
04 皮膚感作性試験	01 LLNA		ICCVAM 	OECD TG No. 429 		
	02 rLLNA	EURL ECVAM & ICCVAM 	ICCVAM 	OECD TG No. 429 	2012年7月 	2012年12月
	03 LLNA:DA	国立衛研& 代替法学会 	JaCVAM or ICCVAM 	OECD TG No. 442A 	2012年10月 	2012年12月
	04 LLNA:BrdU-ELISA	国立衛研& 代替法学会 	JaCVAM or ICCVAM 	OECD TG No. 442B 	2012年10月 	2013年1月
	05 LLNA:BrdU-FCM	KoCVAM 	OECD 	OECD TG No. 442B 		
	06 DPRA	EURL ECVAM 	EURL ECVAM 	OECD TG No. 442C 	2015年2月 	2015年3月
	07 ADRA	日化協& 代替法学会 	JaCVAM 	OECD TG No. 442C 		
	08 KeratinSense法	EURL ECVAM 	EURL ECVAM 	OECD TG No. 442D 	2015年4月 	2015年7月
	09 LuSens法	BASF 	EURL ECVAM 	OECD TG No. 442D 		
	10 h-CLAT法	国立衛研& EURL ECVAM 	EURL ECVAM 	OECD TG No. 442E 	2017年3月 	2017年3月
	11 IL-8 Luc アッセイ	経産省& 代替法学会 	JaCVAM 	OECD TG No. 442E 		
	12 U-SENS™法	Loreal 	EURL ECVAM 	OECD TG No. 442E 	2018年8月 	2018年11月
	13 SENS-IS法	ImmunoSearch 	ESAC 	OECD 		
	14 GARD法	3RsMC 	ESAC 	OECD 		
	15 kDPRA	BASF 	ESAC 	OECD 		
	16 EpiSensA法	代替法学会 & LRI 				
05 皮膚刺激性試験	01 ヒト表皮試験 (LabCyte EPI-MODEL24 SIT)	国立衛研 	OECD 	OECD TG No. 439 	2013年6月 	2013年12月
	02 ヒト表皮試験 (EpiSkin™, EpiDerm™ SIT, SkinEthics™ RHE)	EURL ECVAM 	EURL ECVAM 	OECD TG No. 439 	2013年3月 	2013年3月
	03 LbL法	代替法学会 				
06 皮膚透過性試験	01 In vitro 皮膚透過試験		OECD 	OECD TG No. 428 	2013年10月 	2014年1月
07 急性毒性試験	01 細胞毒性試験	EURL ECVAM & ICCVAM 	ICCVAM 	OECD GD No. 129 	2011年4月 	2011年6月
	02 細胞毒性試験 (限度試験)	EURL ECVAM 	EURL ECVAM 	EURL ECVAM recommendatio 		

終了

進行中

保留または中断

未着手

分類	試験名	バリデー ション研究	専門家による 第三者評価	テスト ガイドライン	JaCVAM 評価会議等	行政への 提案
08 遺伝毒性試験	01 In vitro 染色体異常 試験、小核試験、 遺伝子突然変異試験		OECD 	OECD TG No. 473, 476, 487, 490 	国立衛研 	
	02 In vitro コメットアッセイ	国立衛研 				
	03 In vivo コメットアッセイ	国立衛研 	OECD 	OECD TG No. 489 		
	04 Pig-A	FDA 		OECD 		
	05 EpiDerm™を用いる 小核試験	COLIPA/ EURL ECVAM 				
09 内分泌かく乱物質 スクリーニング	01 ER-STTAアッセイ	経産省& 厚労省 	OECD 	OECD TG No. 455 	2016年12月 	2016年12月
	02 VM7 Luc ER TAアッセイ	ICCVAM 	ICCVAM 	OECD TG No. 455 	2013年10月 	2014年1月
	03 CCiアッセイ	ICCVAM 				
	04 MELNアッセイ	EURL ECVAM 				
	05 AR-Ecoscreen法	経産省& 厚労省 	OECD 	OECD TG No. 458 	2018年12月 	2019年2月
	06 AR-CALUX法, 22Rv1/MMTV法	EURL ECVAM &Korea 	ESAC&Korea 	OECD TG No. 458 		
	07 ヒト組換えエストロゲン 受容体(hrER) in vitro 試験	EPA, CERI 	OECD 	OECD TG No. 493 		
10 催奇形性予測試験	01 Hand1-Luc アッセイ	経産省& 日化協 	JaCVAM 	OECD 		
11 代謝・薬物動態	01 CYP誘導法	EURL ECVAM 	EURL ECVAM 	OECD 		
	02 PBKモデル法			OECD 		
12 免疫毒性試験	01 IL-2 Lucアッセイ	東北大 	JaCVAM 			
	02 IL-1βアッセイ	東北大 				
13 培養細胞を用いた 形質転換試験	01 Bhasアッセイ	NEDO 	EURL ECVAM 	OECD GD 		
	02 SHEアッセイ	EURL ECVAM 	EURL ECVAM 	OECD GD 	2018年3月 	
	03 Balbアッセイ	EURL ECVAM 	EURL ECVAM 	OECD 		
14 発熱性物質試験	01 In vitro PBMC法	EURL ECVAM 	EURL ECVAM or ICCVAM 	Ph. Eur. 	2010年12月 	保留

終了

進行中

保留または中断

未着手