

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。