2015年6月1日
東京ビッグサイト

「動物実験代替法についての各国の動向および最新研究

小島　肇
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
動物実験代替法評価センター

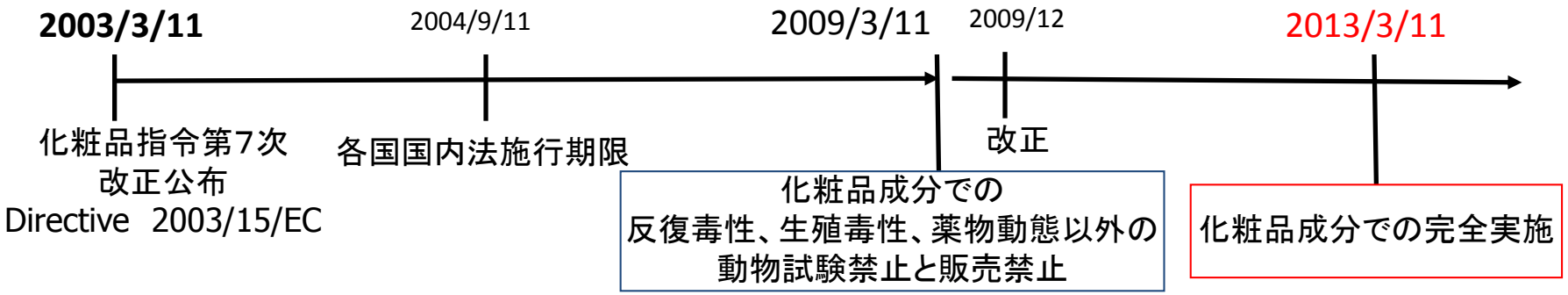
目次

- 動物実験の3Rsと昨今の社会動向
- 化粧品規制と厚生労働省の対応
- 代替法利用の現状
- 代替法の長期展望
  - OECDの戦略
  - 海外の進捗

動物実験の３Rsと昨今の社会動向

動物実験反対運動家がDraize testの説明で使う画像

EUの化粧品製品及び化粧品成分に対する動物実験禁止措置



2013年3月～

　禁止措置の完全実施（ただし、化学物質のREACH規制等他の規制で実施される動物実験の実施や当該データのアクセス までを禁止しているものではない。）

　※　REACH規則とは、欧州連合（EU）における化学品の登録・評価・認可及び制限に関する規則。2007年6月1日に発効。

11 March 2013 Last u

EU bans

**A complete ban on t
developed through
effect in the EU.**

The ban applies to al
ingredients sold in th
the world testing on a

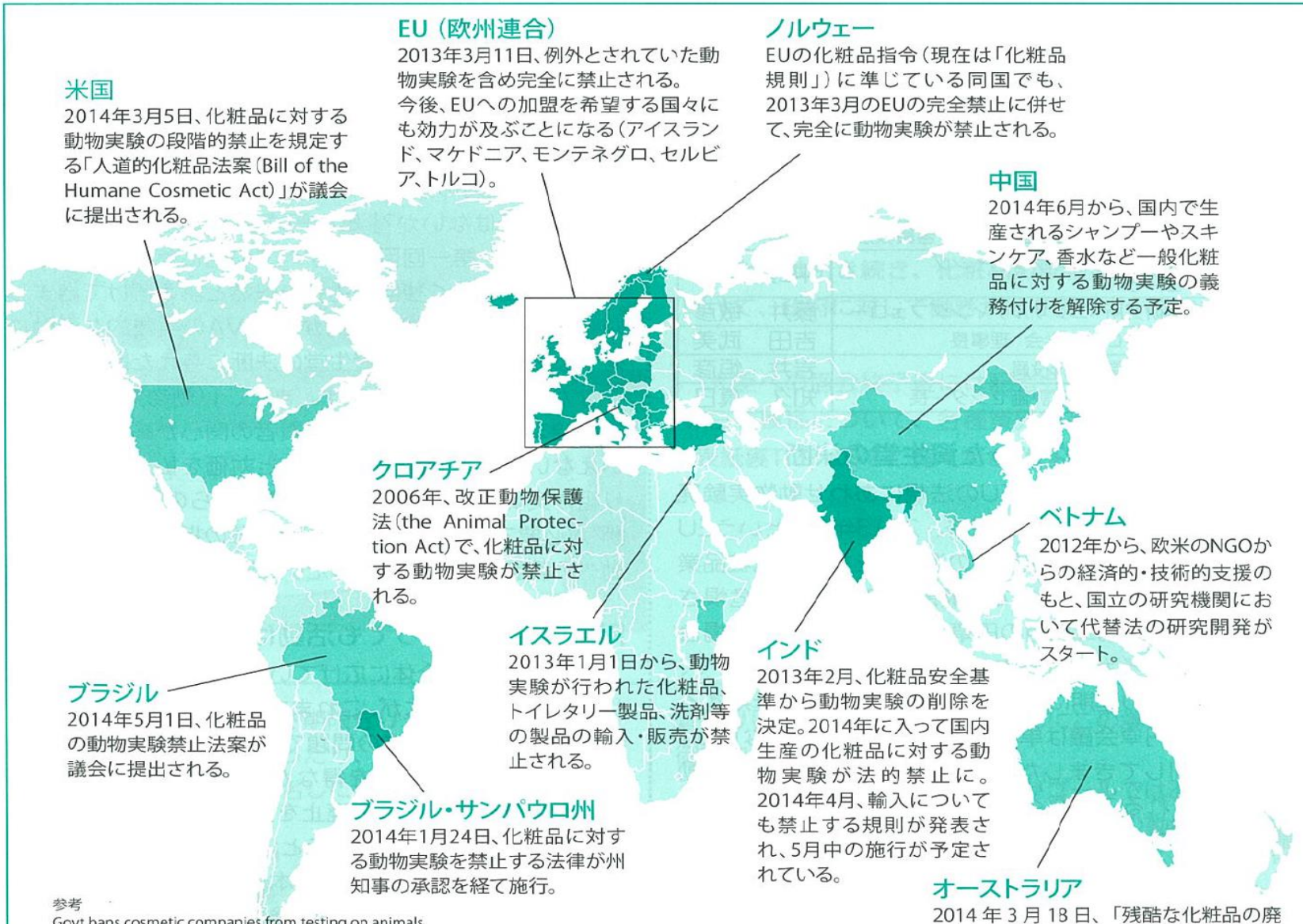
The 27 EU countries
tests in place since 2
Commission is now a
partners to do the sa

Animal rights lobbyist

The **anti-vivisection
Animal Experiments**

化粧品の安全性評価と動物実験における各国の状況

国名	状況	補足説明
EU	禁止	化粧品製品とその原料
イスラエル	禁止	化粧品製品とその原料
インド	禁止	2014年より輸入も禁止
中国	動物実験の廃止	2014年より一般化粧品に限る
ブラジル	禁止法案提出	サンパウロ州は禁止
米国	禁止法案提出	
オーストラリア	禁止法案提出	
韓国	一般品の動物実験の要求なし	機能性化粧品においても代替法の受入れを表明
日本	一般品の動物実験の要求なし	医薬部外品においても代替法の受入れ



EU（欧州連合）

2013年3月11日、例外とされていた動物実験を含め完全に禁止される。
今後、EUへの加盟を希望する国々にも効力が及ぶことになる（アイスランド、マケドニア、モンテネグロ、セルビア、トルコ）。

ノルウェー

EUの化粧品指令（現在は「化粧品規則」）に準じている同国でも、2013年3月のEUの完全禁止に併せて、完全に動物実験が禁止される。

米国

2014年3月5日、化粧品に対する動物実験の段階的禁止を規定する「人道的化粧品法案（Bill of the Humane Cosmetic Act）」が議会に提出される。

中国

2014年6月から、国内で生産されるシャンプーやスキンケア、香水など一般化粧品に対する動物実験の義務付けを解除する予定。

クロアチア

2006年、改正動物保護法（the Animal Protection Act）で、化粧品に対する動物実験が禁止される。

ベトナム

2012年から、欧米のNGOからの経済的・技術的支援のもと、国立の研究機関において代替法の研究開発がスタート。

イスラエル

2013年1月1日から、動物実験が行われた化粧品、トイレタリー製品、洗剤等の製品の輸入・販売が禁止される。

インド

2013年2月、化粧品安全基準から動物実験の削除を決定。2014年に入って国内生産の化粧品に対する動物実験が法的禁止に。2014年4月、輸入についても禁止する規則が発表され、5月中の施行が予定されている。

ブラジル

2014年5月1日、化粧品の動物実験禁止法案が議会に提出される。

ブラジル・サンパウロ州

2014年1月24日、化粧品に対する動物実験を禁止する法律が州知事の承認を経て施行。

オーストラリア

2014年3月18日、「残酷な化粧品の廃止法案 2014（End Cruel Cosmetics Bill 2014）」が議会に提出される（化学物質を規制する法律 "the Industrial Chemicals（Notification and Assessment） Act 1989" の改正として）。

参考

Govt bans cosmetic companies from testing on animals
Jan 23, 2014 THE TIMES OF INDIA
http://timesofindia.indiatimes.com/city/mumbai/Govt-bans-cosmetic-companies-from-testing-on-animals/articleshow/29225017.cms

Vietnam takes strides to replacing animal testing in cosmetics with CFI grant
Mar 28, 2013 CosmeticsDesign-Asia.com
http://www.cosmeticsdesign-asia.com/Regulation-Safety/Vietnam-takes-strides-to-replacing-animal-testing-in-cosmetics-with-CFI-grant

India to ban import of animal-tested cosmectics
May 11,2014 DECCAN Chronicle
http://www.deccanchronicle.com/140511/nation-current-affairs/article/india-ban-import-animal-tested-cosmectics

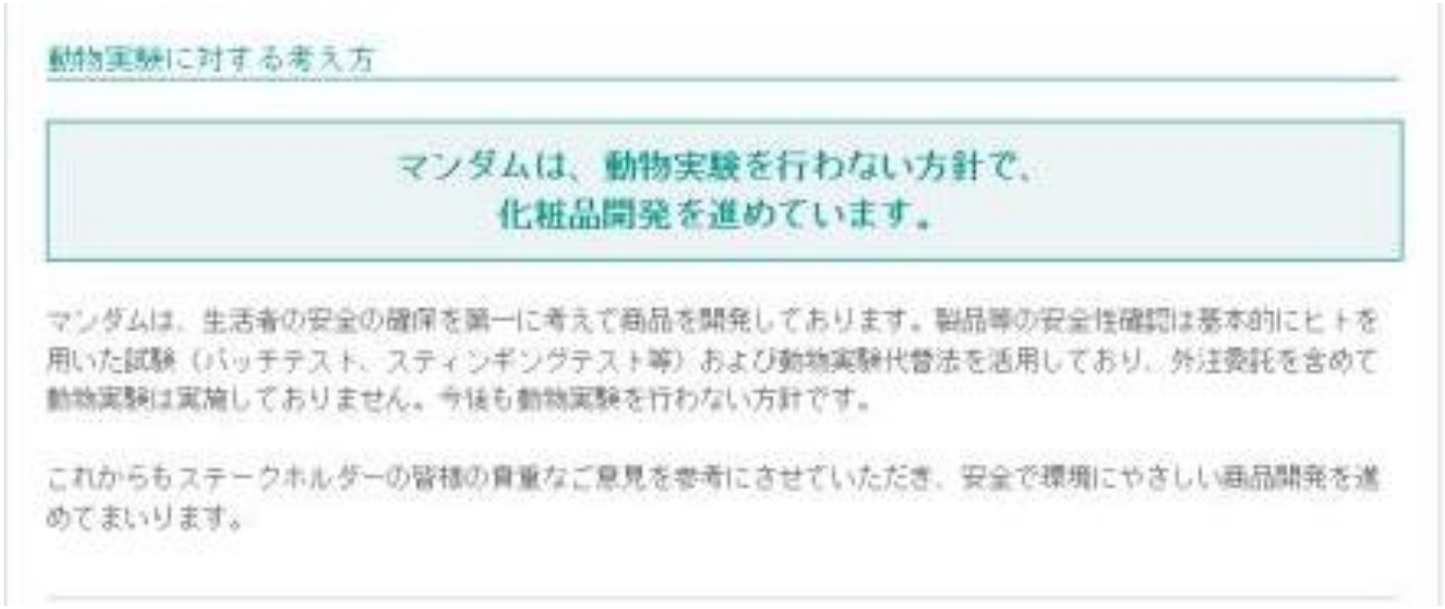
SHISEIDO
NEWS RELEASE

2013-2

資生堂、化粧品・医薬部外品における動物実験の廃止を決定

資生堂は、動物実験代替法（以下、代替法）に基づく安全性保証体系を確立し、これにより2013年4月から開発に着手する化粧品・医薬部外品における社内外での動物実験を廃止します。なお、社会に対して安全性の説明をする必要が生じた場合※1は除きます。本件については、2013年2月28日開催の取締役会において決定しました。

※1 市場にある製品の成分に関して、改めてその安全性を証明する必要が生じ、そのための選択肢が動物実験しかない場合や、一部の国において化粧品の安全性保証に動物実験が不可欠となっている場合。


動物実験に対する考え方

マンダムは、動物実験を行わない方針で、
化粧品開発を進めています。

マンダムは、生活者の安全の確保を第一に考えて商品を開発しております。製品等の安全性確認は基本的にヒトを用いた試験（パッチテスト、スティンギングテスト等）および動物実験代替法を活用しており、外注委託を含めて動物実験は実施しておりません。今後も動物実験を行わない方針です。

これからもステークホルダーの皆様の貴重なご意見を参考にさせていただき、安全で環境にやさしい商品開発を進めてまいります。

小括

- 化粧品の開発に動物実験を使用しないというEUの規制は世界的に普及しつつある。
- 日本でも多くの化粧品会社が、動物実験の廃止を宣言している。

化粧品規制と厚生労働省の対応

医薬部外品

- 疾病の予防を目的とするものや人の身体の構造等に影響を与えるもの
- 人体に対する作用が緩和

例：入浴剤、染毛剤、薬用化粧品、ビタミン剤、育毛剤等

中国の特殊化粧品、韓国の機能性化粧品と同等

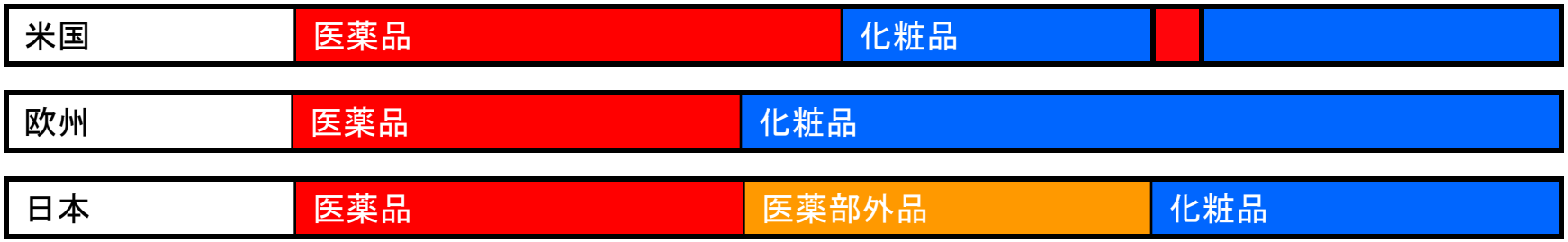
化粧品

- 人の身体を清潔、美化するため等に使用されるもの
- 人体に対する作用が緩和なもの

例：化粧水、香水、石鹸、シャンプー、ハミガキ、口紅 等

国際動向：制度の比較

- 医薬品・化粧品の区分け



- 製品カテゴリーが異なる場合の例

	米国	欧州	日本
日焼け止め製品	OTC医薬品	化粧品	化粧品
美白製品*	化粧品**	化粧品	医薬部外品
腋臭防止剤	化粧品(デオドラント) 又は OTC医薬品(制汗剤)	化粧品(デオドラント)	医薬部外品

*メラニン生成抑制製品。

**日本で美白製品として販売されているものの米国における扱い。

参考： 化粧品事典　日本化粧品技術者会編　丸善株式会社

医薬部外品および新規ポジティブリスト掲載成分で求められる安全性に関する添付すべき資料の範囲

薬事法施行規則第40条第1項第2号で定める安全性に関する資料
1 単回投与毒性に関する資料
2 反復投与毒性に関する資料
3 遺伝毒性に関する資料
4 がん原性に関する資料
5 生殖発生毒性に関する資料
6 局所刺激性に関する資料
7 皮膚感作性に関する資料
8 光安全性に関する資料
9 吸収・分布・代謝・排泄に関する資料
10 ヒトパッチに関する資料
11 ヒトにおける長期投与（安全性）試験に関する資料

医薬部外品の新添加物に必要な安全性資料

試験項目	皮膚、頭皮、毛髪への適用	口唇への適用	口腔への適用	ソフトコンタクトレンズ用消毒剤
単回経口投与毒性	○	○	○	○
遺伝毒性	○	○	○	○
皮膚一次刺激性	○	○	○	○
連続皮膚刺激性	○	○		
眼粘膜一次刺激性	○			○
連続眼粘膜刺激性				○
口腔粘膜一次刺激性		○	○	
連続口腔粘膜刺激性		○	○	
皮膚感作性	○	○	○	○
光安全性	○	○		○
吸収・分布・代謝・排泄	△	△	△	△
ヒトパッチ	○	○	○	○

化粧品において業界が自主的に定めた安全性試験法一覧

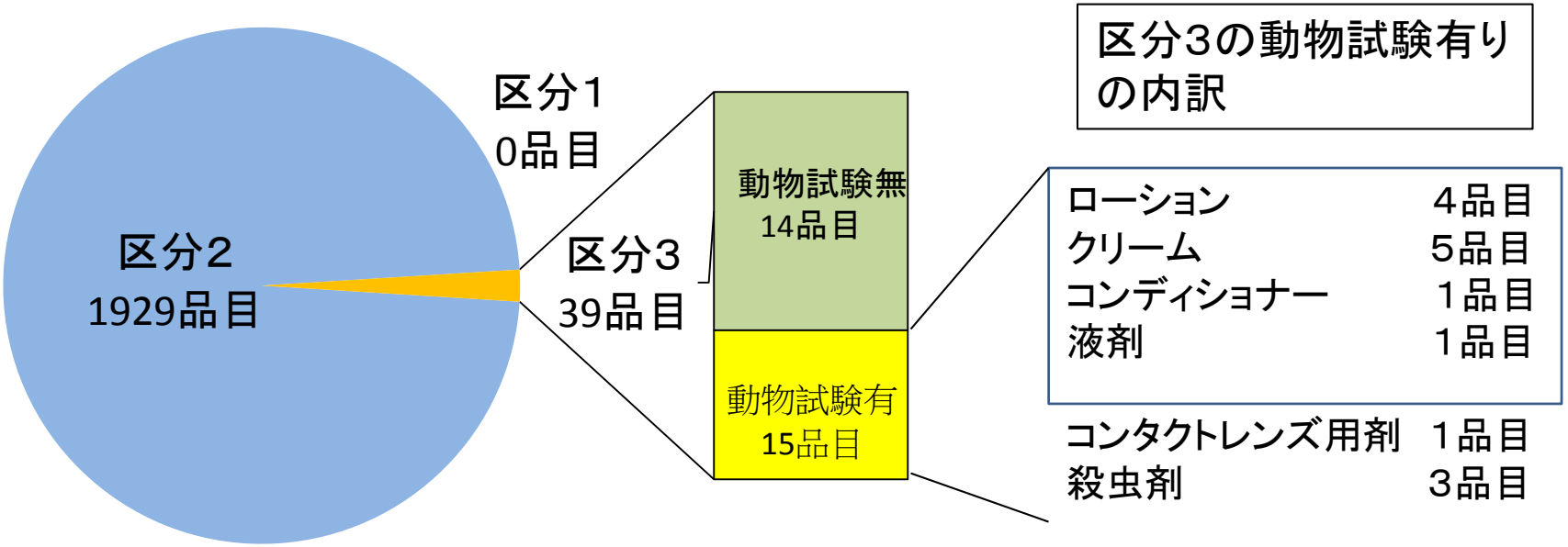
安全性評価項目	試験法名
Ⅰ. 単回投与毒性	単回投与毒性試験
Ⅱ. 皮膚毒性	１． 皮膚一次刺激性試験 ２． 連続皮膚刺激性試験 ３． 光毒性試験 ４． パッチテスト ５． 動物を用いない代替法試験
Ⅲ. 眼粘膜刺激性	1. 眼粘膜刺激性試験 2. 動物を用いない代替法試験
Ⅳ.皮膚アレルギー性	1. 皮膚感作性試験 2. 動物を用いない代替法試験 3. 光皮膚感作性試験
Ⅴ.遺伝毒性	1. 細菌を用いる復帰突然変異試験 2. 哺乳類の培養細胞を用いる染色体異常試験 3. 小核試験

赤字が新添加剤で必要な試験法

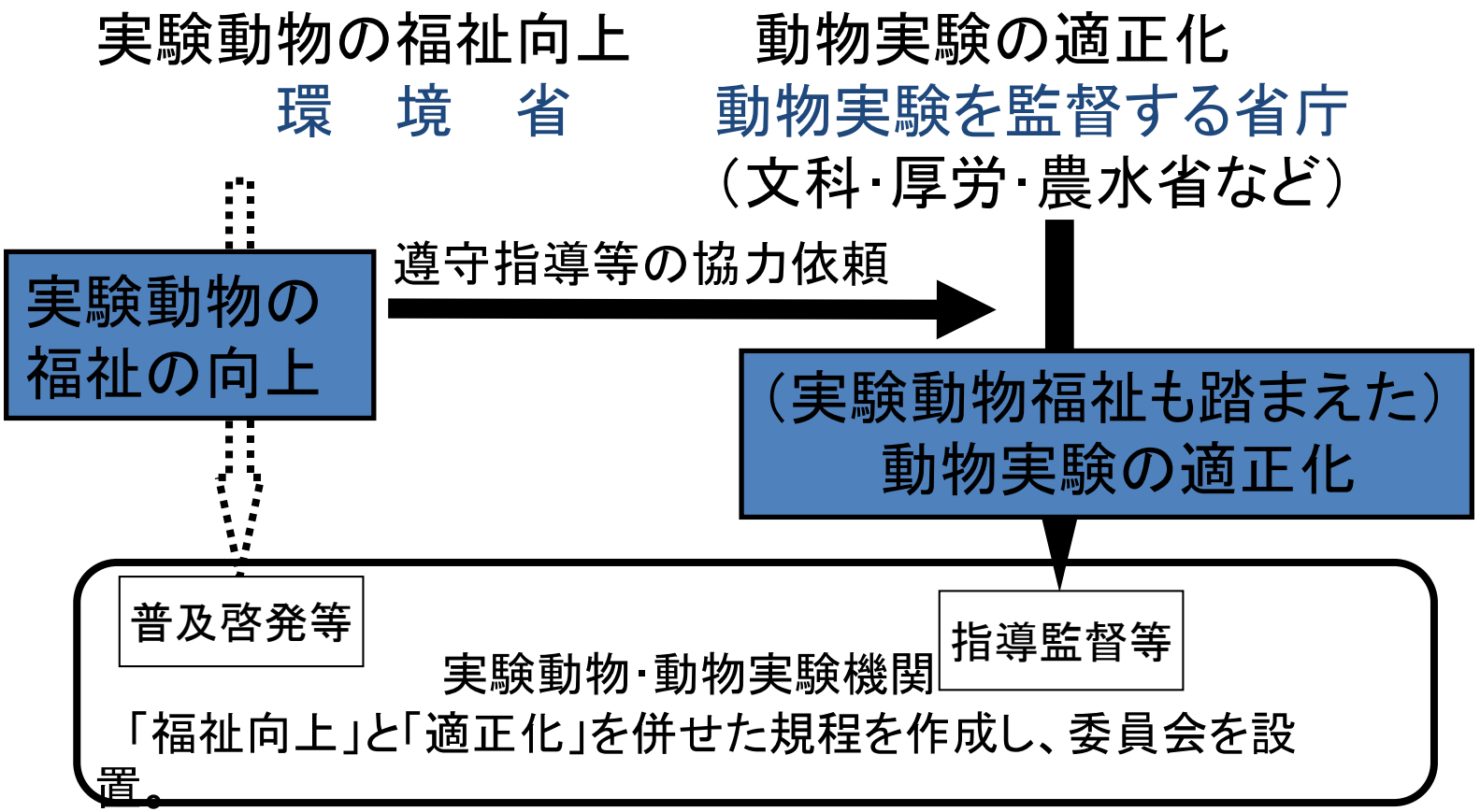
医薬部外品の承認状況

	平成22年度	平成23年度	平成24年度
医薬部外品 承認品目数	1,976	1,938	1,968

平成24年度承認品目の内訳



「動物の愛護及び管理に関する法律」（動物愛護管理法）が改定され、平成18年6月1日から施行



実験動物における3Rsの徹底

動物愛護に関する規制の状況

環境省

「動物の愛護及び管理に関する法律」（平成１７年改正、平成１８年施行）

実験動物の飼養及び管理並びに苦痛の軽減に関する基準（平成１８年環境省告示）

：　実験動物の飼育・管理方法や試験における動物の苦痛軽減の方法等を定めたもの

3Rs：Refinement（苦痛の軽減）、Replacement（代替法の利用）、Reduction（動物利用数の削減）

動物実験等の実施に関する3省の基本方針

文部科学省 基本方針

（平成１８年文部科学省告示７１号）

【概要】

大学・試験機関等での動物の管理方法、試験実施のための基準を策定

3Rsの原則

厚生労働省 基本方針

（平成１８年厚生科学課長通知）

【概要】

厚労省の研究機関・施設での動物の管理方法、試験実施のための基準を策定

3Rsの原則

農林水産省 基本方針

（平成１８年農林水産技術会議事務局長通知）

【概要】

農水省の研究機関・施設での動物の管理方法、試験実施のための基準を策定

3Rsの原則

厚労省が関与する動物愛護に係る規制について

3Rの原則については、基本理念として医薬品等の開発にも求められる。

医薬品 ⇒ 製薬協において自主規範の策定（H25.1)

医薬部外品（薬用化粧品）

⇒ 3Rの原則を求める。

OECDテストガイドラインとして採択された試験の結果であれば、医薬部外品の承認申請時の資料の一部として受け入れる。

（平成18年7月19日付医薬食品局審査管理課事務連絡）

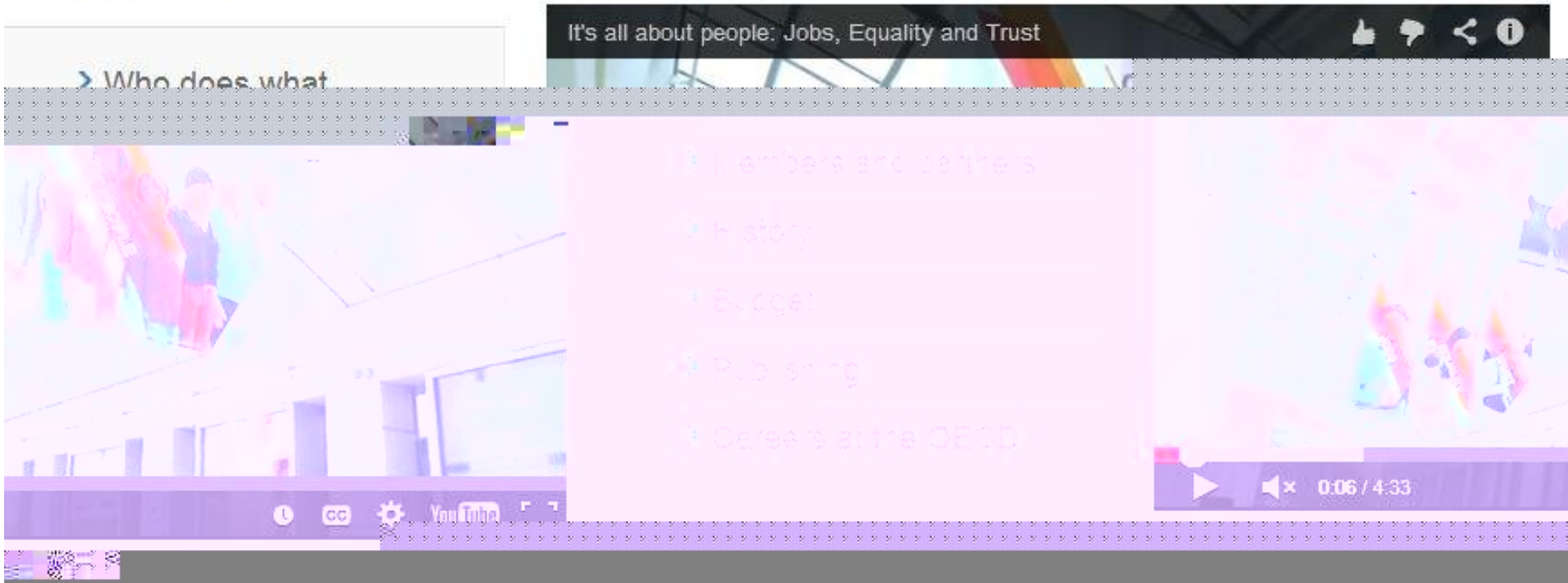
OECD

BETTER POLICIES FOR BETTER LIVES

OECD Home | About | Countries | Topics

OECD Home › About the OECD

About the OECD



国内における動物代替法の開発について

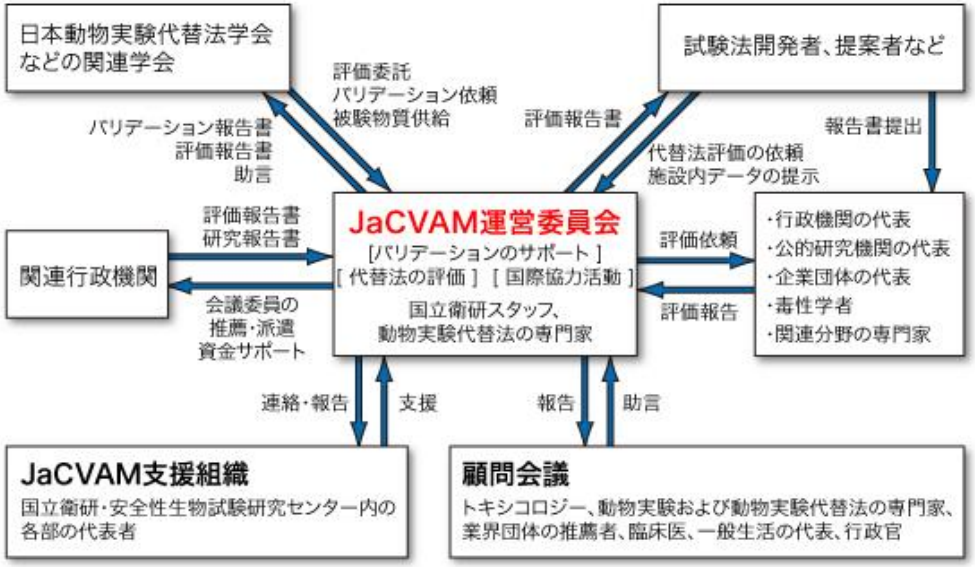
○　平成17年11月に国立医薬品食品衛生研究所に**JaCVAM**（日本動物代替法評価センター）を設置

（1）新規試験法の評価およびガイドライン化

（2）新規試験法のバリデーション支援

（3）3Rsに関する国際協調及び普及

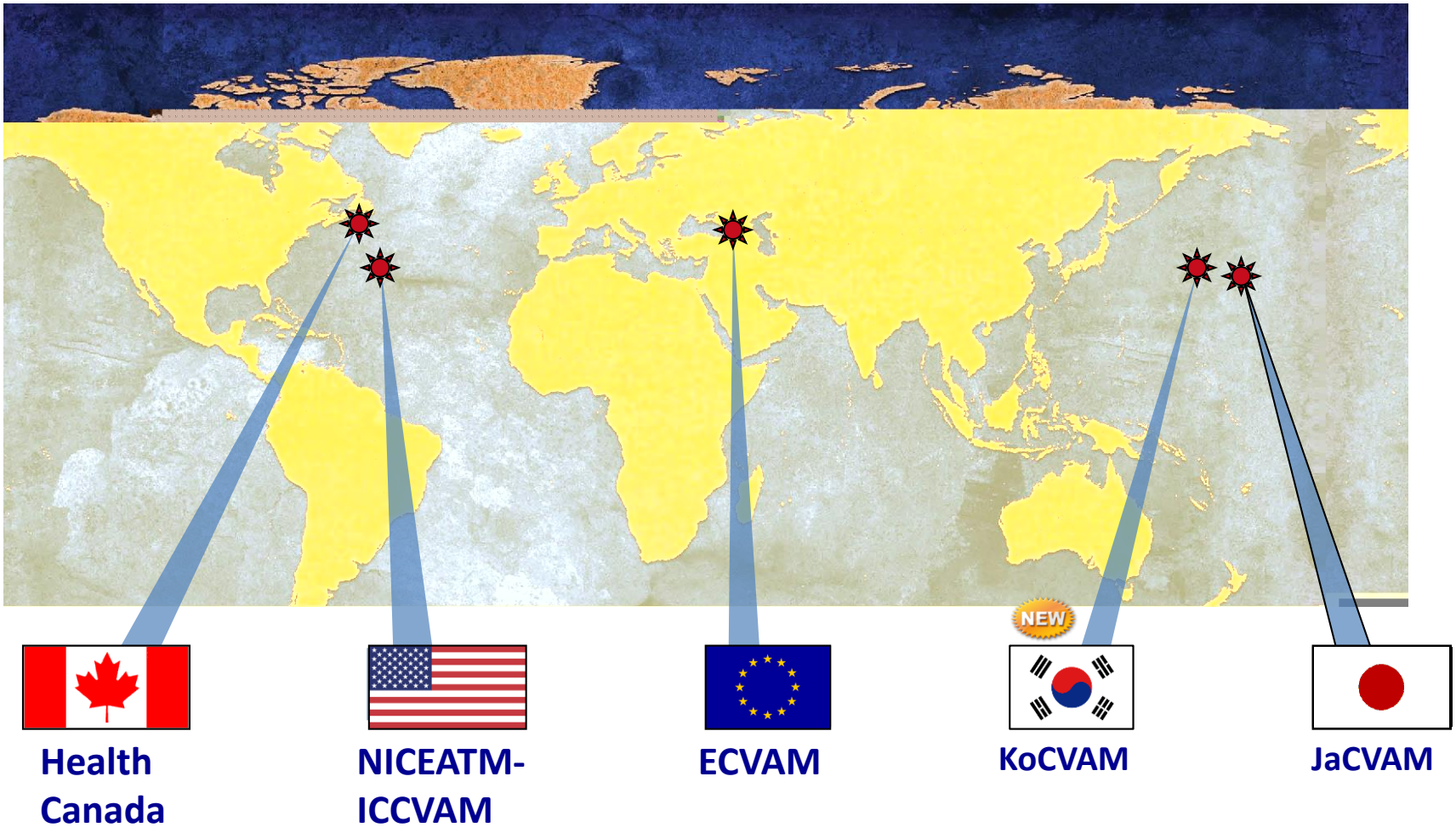
JaCVAMの運営組織／評価システム



http://jacvam.jp/about/about03.htmll　より転用

ICATM cooperation

ICATM is a **voluntary** international cooperation of national organizations: Canada, the European Union, Japan, South Korea, and the United States.



小括

- 厚生労働省も動物実験の３Rsに関しては、対応を急いでいる。
- JaCVAMを中心に、国際機関と連携して、代替法の公定化を目指している。

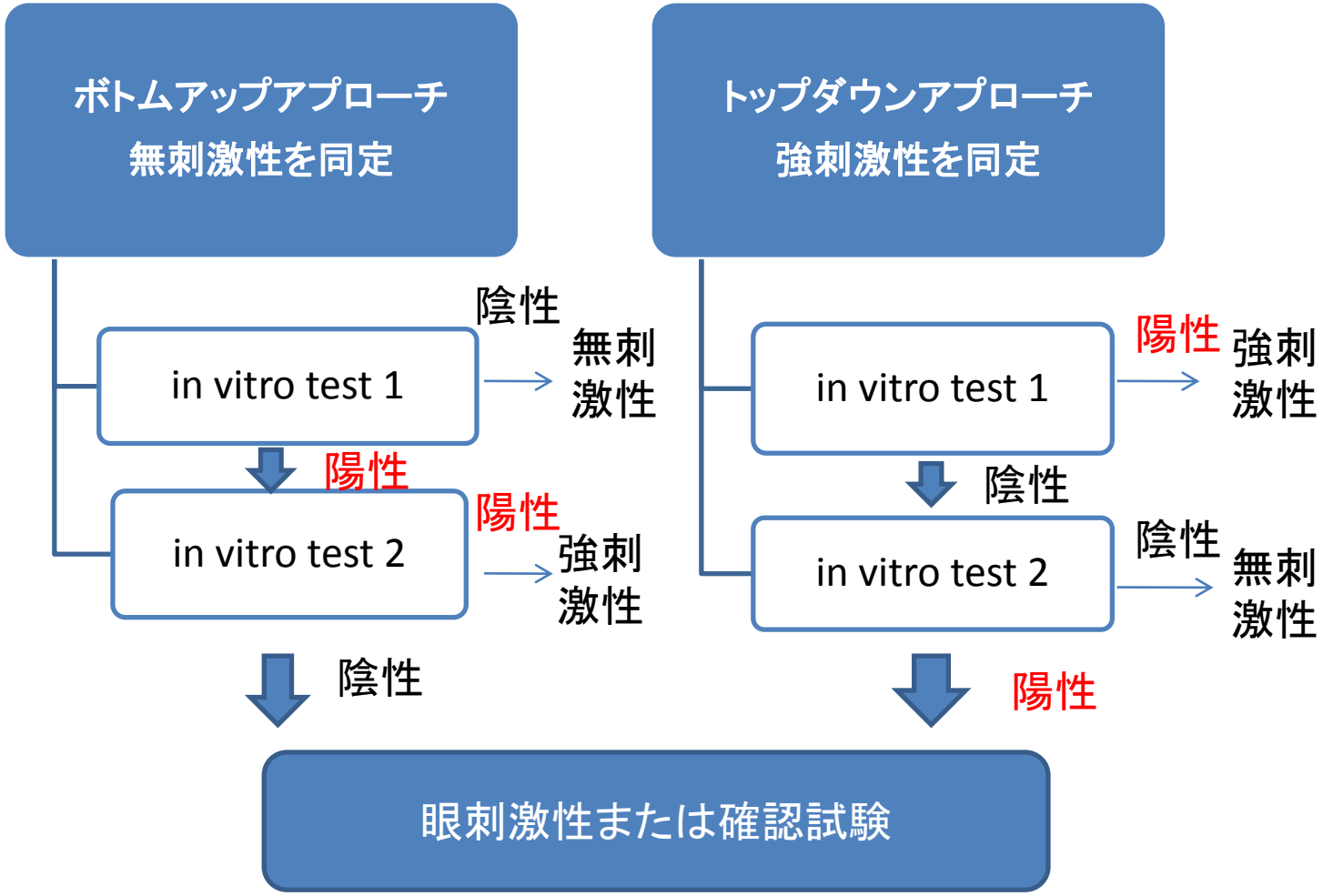
代替法利用の現状

動物実験代替法が関与したOECDのTG(2015)

分類	試験法
皮膚腐食性試験	*In vitro* Skin Corrosion: Transcutaneous Electrical Resistance Test Method (TER) :TG430
	In vitro Skin Corrosion: Reconstructed Human Epidermis (RHE) test method :TG431
	CORROSITEX Skin Corrosivity Test :TG435
皮膚刺激性試験	*In vitro* Reconstructed Human Epidermis (RhE) Test methods, EpiDerm, EPISKIN, SkinEthic, LabCyte EPI-Model: TG439
光毒性試験	3T3 NRU Phototoxicity Test :TG432
眼刺激性試験	Updated Acute Eye Irritation/Corrosion : TG 405
	Bovine Corneal Opacity and Permeability (BCOP) Test Method :TG437
	Isolated Chicken Eye (ICE) Test Method :TG438
	Fluorescein Leakage (FL) Test Method: TG460
皮膚感作性試験	Murine local lymph node assay (LLNA) for Skin Sensitisation :TG429
	Nonradioactive LLNA protocol, LLNA:DA : TG442A
	Nonradioactive LLNA protocol (LLNA: BrdU-ELISA) : TG442B
	In Chemico Skin Sensitisation, Direct Peptide Reactivity Assay (DPRA) :TG442C
	In Vitro Skin Sensitisation, ARE-Nrf2 Luciferase Test Method :TG442D

動物実験代替法が関与したOECDのTG(2015)

分類	試験法
単回投与毒性試験	Fixed Dose Procedure (FDP) : TG420
	Acute Toxic Class Method (ATC) : TG423
	Up and Down Procedure (UDP): TG425
	Inhalation toxicity - Acute Toxic Class Method : TG436
	Cytotoxicity Tests to Estimate Starting Doses for Acute Oral Systematic Toxicity Tests:　Guidance Document
内分泌かく乱スクリーニング	Performance-Based Test Guideline for Stably Transfected Transactivation *In vitro* Assays to Detect Estrogen Receptor AgonistsTest : TG455
	H295R Steroidogenesis Assay :TG456
	BG1Luc Estrogen Receptor Transactivation Test Method for Identifying Estrogen Receptor Agonists and Antagonists: TG457
遺伝毒性試験	Bacterial Reverse Mutation Test : TG471
	In vitro Mammalian Chromosome Aberration Test : TG473
	In vitro Mammalian Cell Gene Mutation Test : TG476
	In vitro Micronucleus Test : TG487
形質転換試験	Syrian Hamster Embryo (SHE) Cell Transformation Assay: Guidance Document
経皮吸収試験	Skin Absorption: *In vitro* Method :TG428



眼刺激性評価における代替法の組合せ

代替法ガイダンス一覧

No	試験法
1	皮膚感作性試験代替法としてのLLNAを化粧品・医薬部外品の安全性評価に活用するためのガイダンス
2	光毒性試験代替法としての*in vitro* 3T3 NRU光毒性試験を化粧品・医薬部外品の安全性評価に活用するためのガイダンス
3	皮膚感作性試験代替法としてのLLNA：DA を化粧品・医薬部外品の安全性評価に活用するためのガイダンス
4	皮膚感作性試験代替法としてのLLNA：BrdU−ELISA を化粧品・医薬部外品の安全性評価に活用するためのガイダンス
5	眼刺激性試験代替法としての牛摘出角膜の混濁および透過性試験法（BCOP）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
6	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ガイダンス
7	眼刺激性試験代替法としての鶏摘出眼球試験法（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

小括

- 開発されている動物を用いない代替法は、皮膚刺激性、光毒性、遺伝毒性および眼刺激性試験に限られる。
- 化粧品の有用な成分の許認可に対し、動物を用いない代替法のみでは対処できない。
- 単独試験法で安全性を担保できる代替法はない。
- 物性、既存物質との比較、構造活性相関、別の代替法との組み合わせが必要である。
- 有害性の評価には有用だが、リスク評価はできない。
- 正確性が良くても、偽陰性の多い方法は認められない。

代替法の長期展望

OECDの戦略

Arch Toxicol. 2011 May;85(5):367-485. doi: 10.1007/s00204-011-0693-22011 May 1.

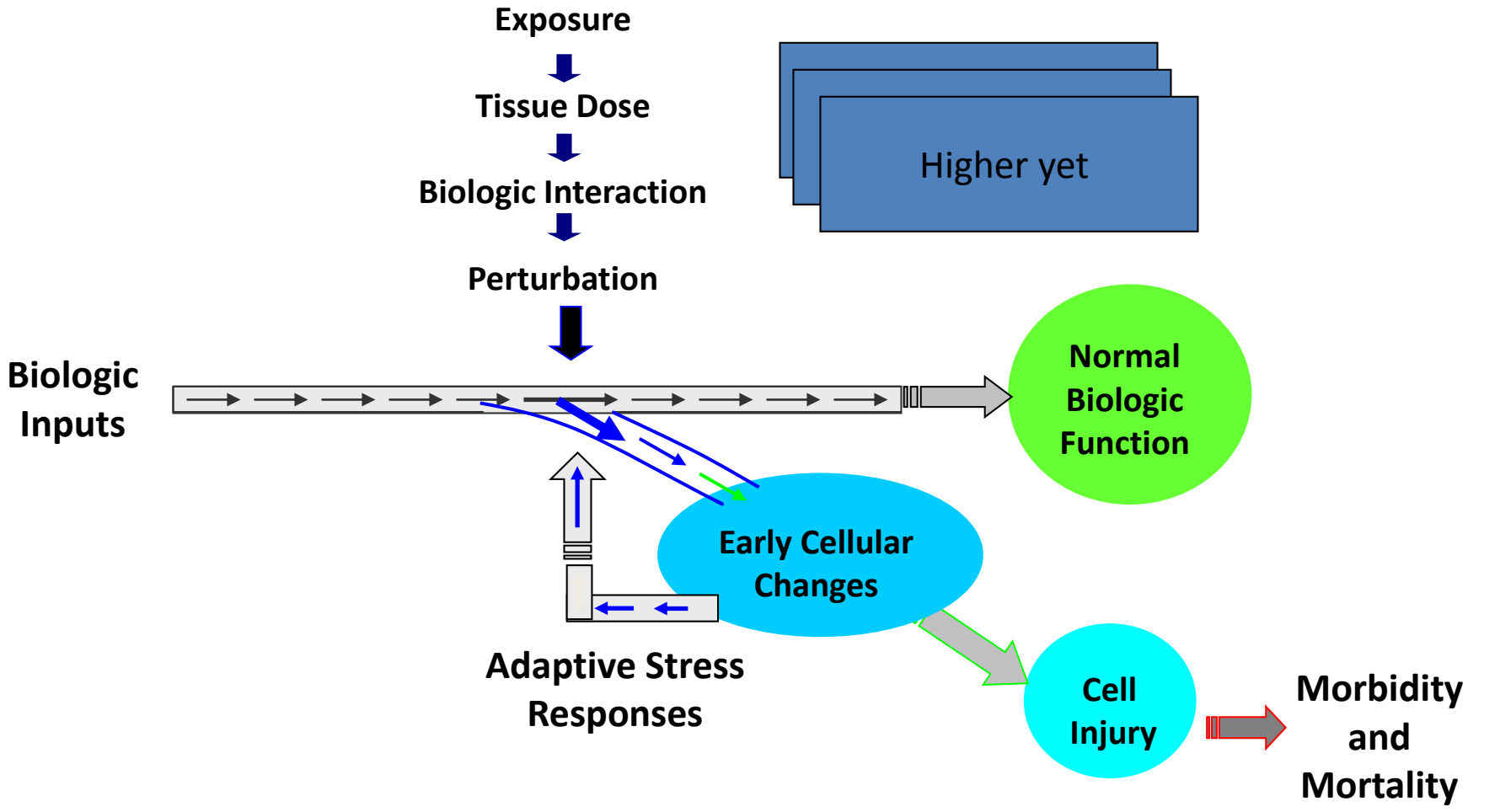
Alternative (non-animal) methods for cosmetics testing: current status and future prospects-2010. Adler S, et al.,

In summary, the experts confirmed that it will take at least another 7-9 years for the replacement of the current in vivo animal tests used for the safety assessment of **cosmetic ingredients** for skin sensitisation.

For toxicokinetics, the timeframe was 5-7 years to develop the models still lacking to predict lung absorption and renal/biliary excretion, and even longer to integrate the methods to fully replace the animal toxicokinetic models.

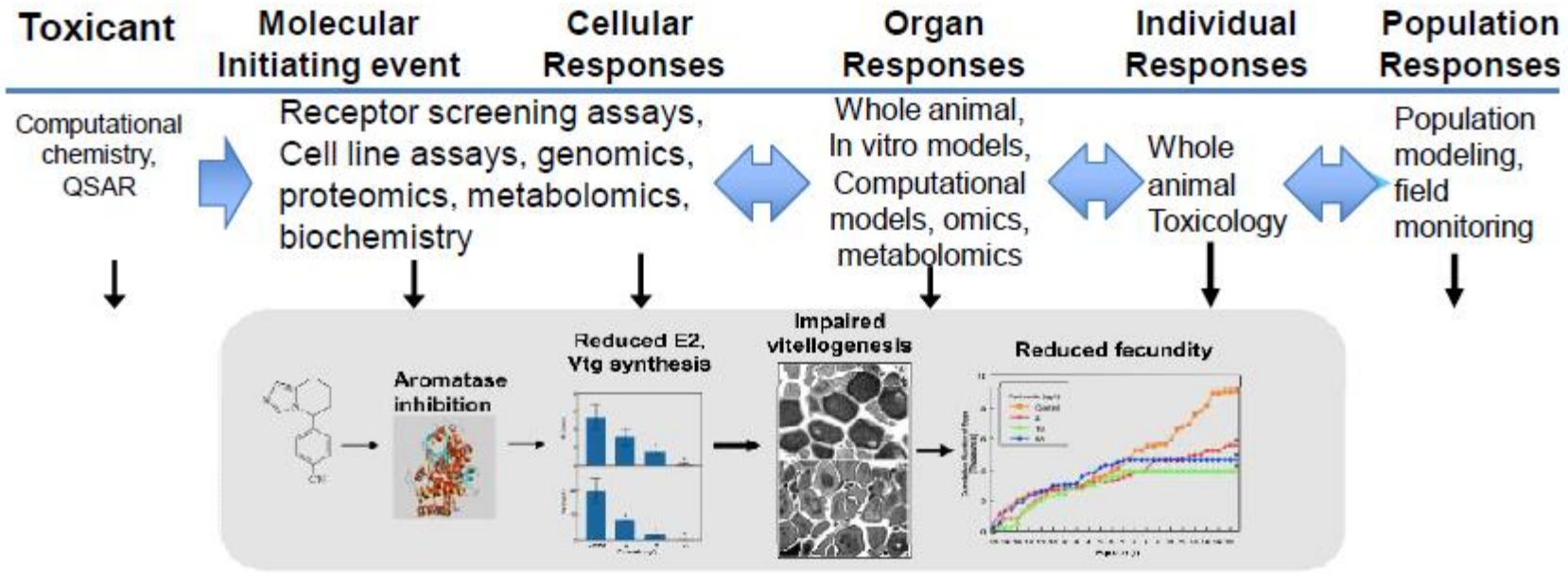
For the systemic toxicological endpoints of repeated dose toxicity, carcinogenicity and reproductive toxicity, the time horizon for full replacement could not be estimated.

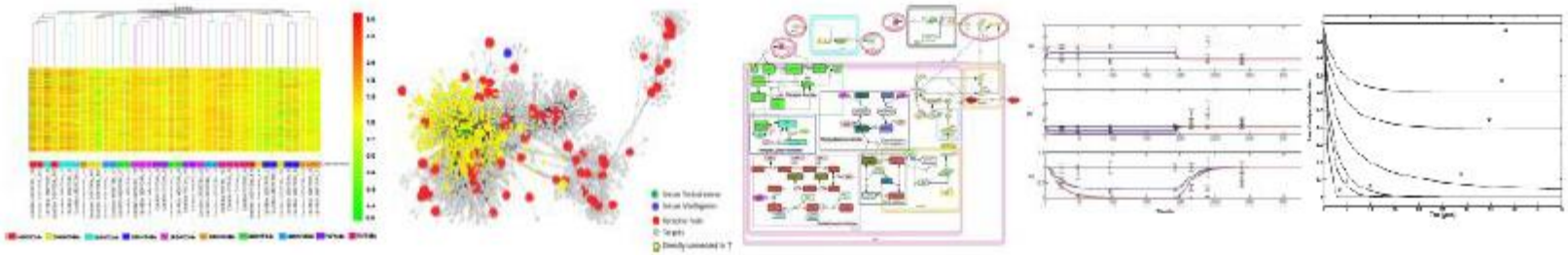
Perturbation of Toxicity Pathways



Adverse Outcome Pathway

AOP and alternative animals in human health assessment





Screening for toxicological effects and chemicals

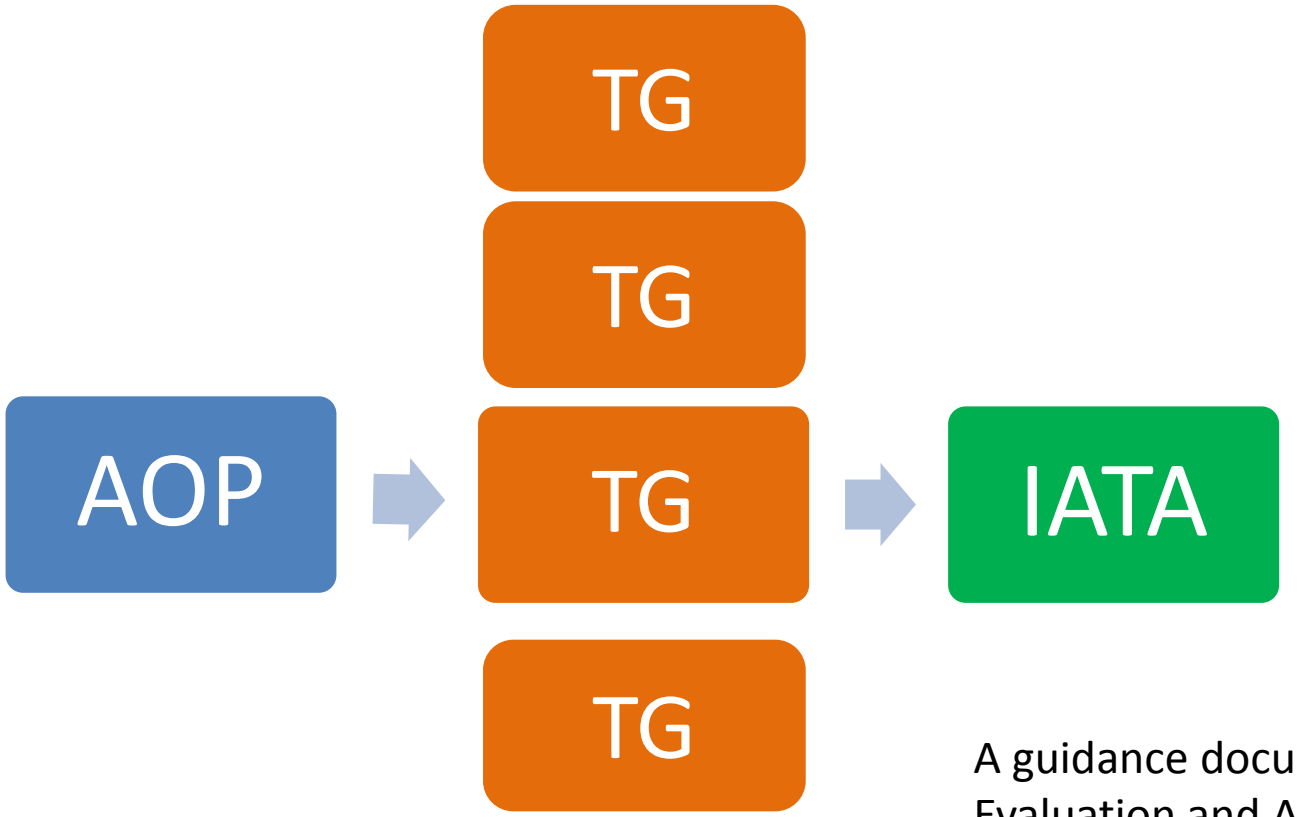
Pathway and network impacts

Mechanistic modeling

Predicted effect

Population impact

OECD

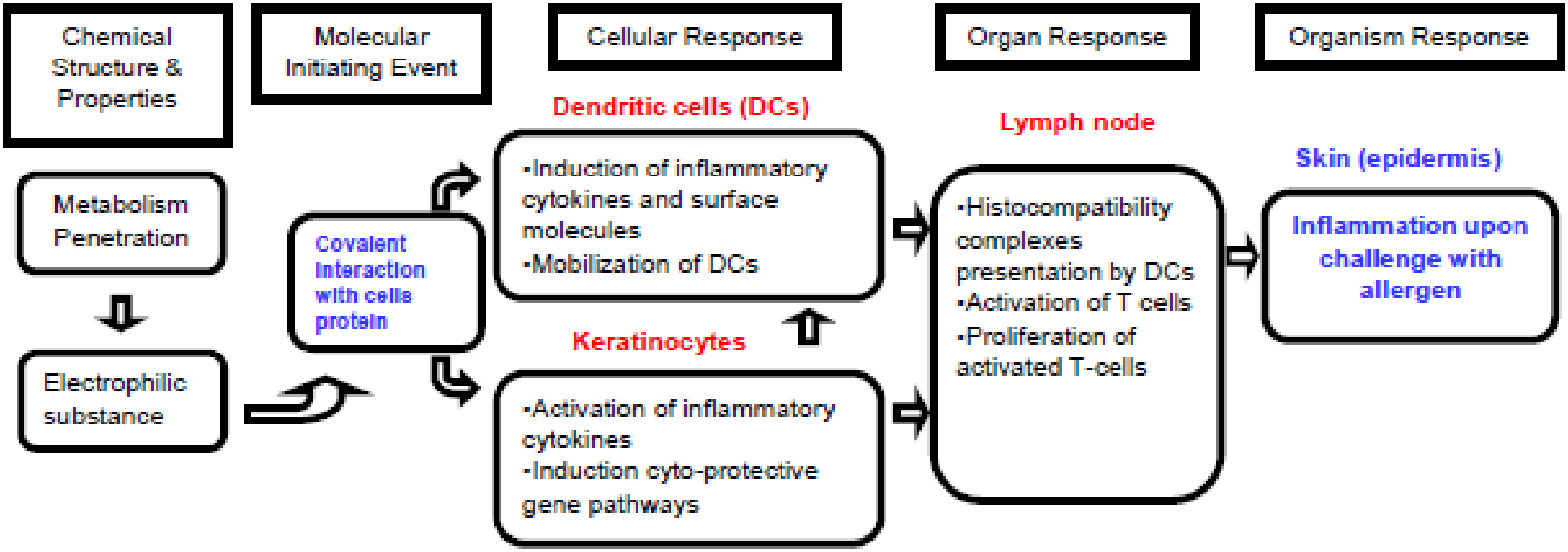


A guidance document on the Evaluation and Application of Integrated Approaches to Testing and Assessment （IATA)

AOP: Adverse Outcome Pathway

TG: Test Guideline

AOP for skin sensitization developed by OECD



DPRA

DCs

H-CLAT,
MUSST?,
IL-8 Luc assay?

Keratinocytes

KeratinoSense

Local Lymph Node assay (LLNA)

Maximization or Buehler test using guinea pig

小括

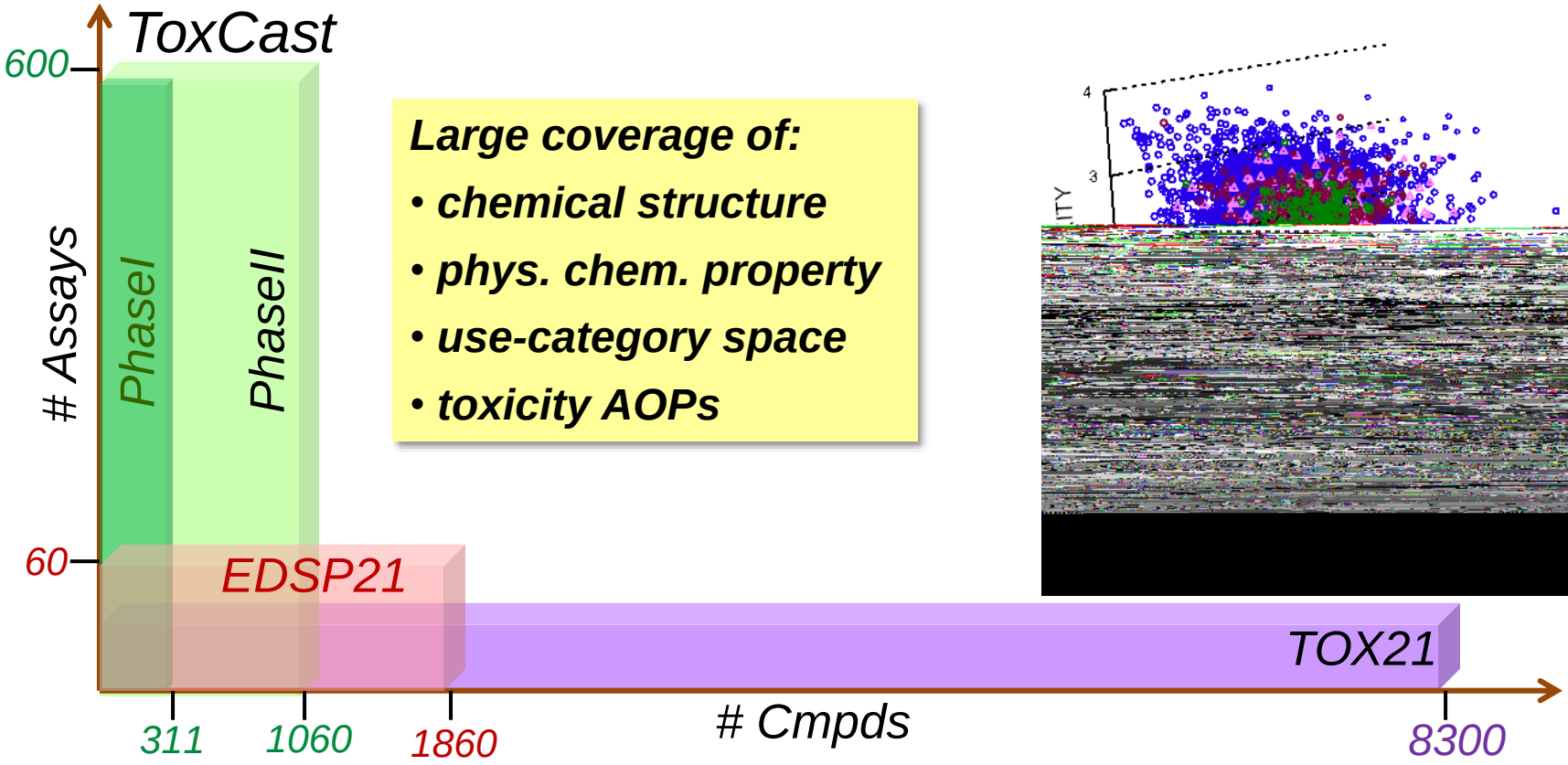
- OECDは毒性毎にAOPの構築を促している。
- OECDはAOPを参考に、MoA（作用機構）に立脚したTGの開発を促そうとしている。
- 一つひとつのTGではsystematic　toxicologyを予測することは不可能である。OECDはIATA開発もTG開発とセットと認識している。

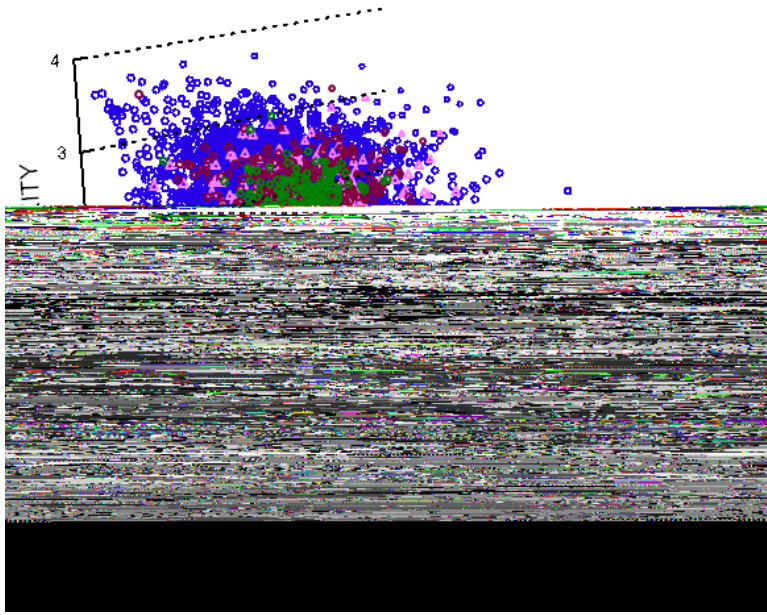
代替法の長期展望

海外の進捗

ToxCast & Tox21 Chemical Inventories

Available for download at: http://www.epa.gov/ncct/dsstox/





Pesticides, cosmetics and personal care products, fragrances, antimicrobials, food additives, failed drugs, chemicals of concern & green alternatives, industrial HPV & MPV, reference compounds (endocrine, reprodevtox, etc.)

SOURCE: Ann Richard, NCCT

Seurat-1 Research Initiative

First step in long term goal : „Towards the replacement of *in vivo* repeated dose systemic toxicity testing"

- Joint funding by the European Commission and a specific industrial sector (cosmetics industry / Colipa)

- € 25 million EC & € 25 million Colipa

- OBJECTIVES
- Development of an **innovative concept for repeated dose systemic toxicity testing**.

- **Proof of concept** for a future full implementation of a **mode-of-action** strategy.

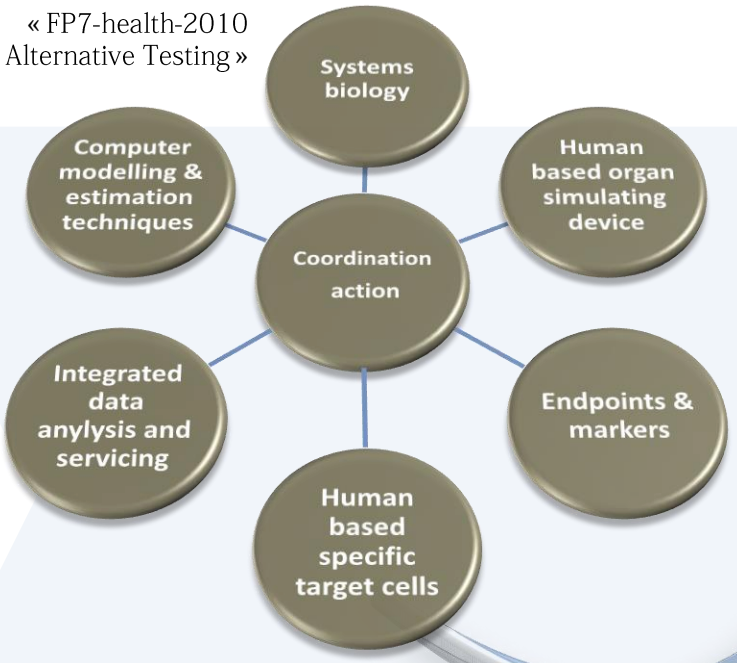
- Development of **innovative testing methods** more predictive than existing testing procedures.

More information and access to SEURAT-1 Annual Report : www.seurat-1.eu

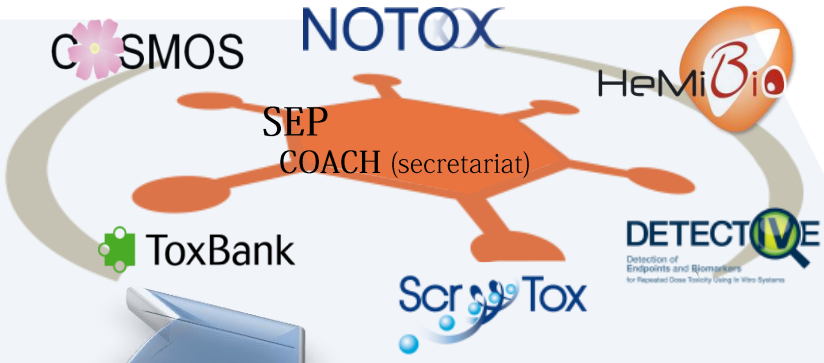
The Building Blocks of SEURAT-1

Call

« FP7-health-2010 Alternative Testing »



Projects



SEURAT

Towards the replacement of *in vivo* repeated dose systemic toxicity testing

- **SCR&Tox**: Stem cell differentiation for providing human-based organ specific target cells
- **HeMiBio**: Development of a hepatic microfluidic bioreactor
- **DETECTIVE**: Identification and investigation of human biomarkers
- **COSMOS**: Delivery of computational tools to predict the effects of chemicals based on *in silico* calculations and estimation techniques
- **NOTOX**: Development of systems biological tools for organotypic human cell cultures
- **ToxBank**: Supporting integrated data analysis and servicing of alternative testing methods in toxicology

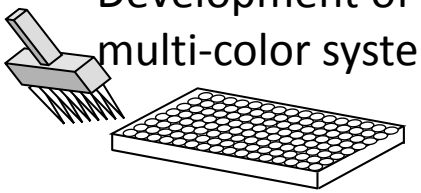
Jap ARCH-Tox SUMETI

Tox-in Vitro

Cell Culture system

- Speedily
- Low cost
- High specificity
- High–throughput

Development of multi-color system



Screening

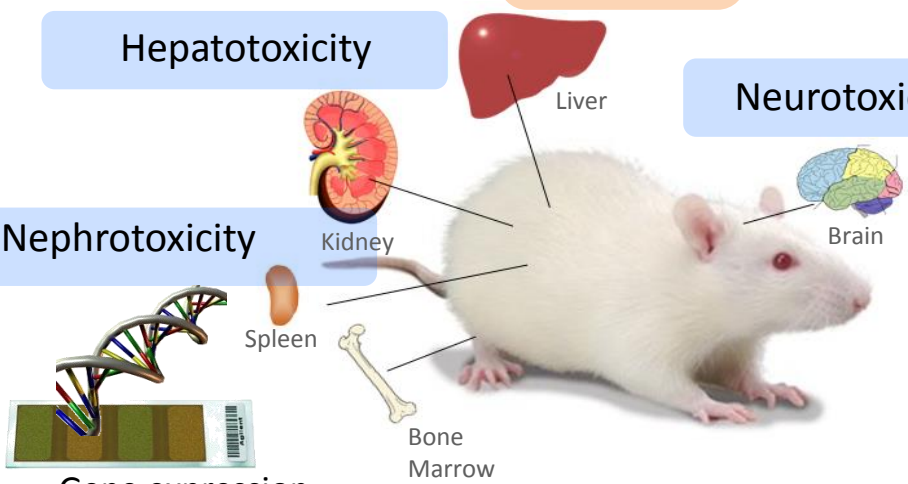
Tox-Omics

New Biomarker

Hepatotoxicity

Neurotoxicity

Nephrotoxicity



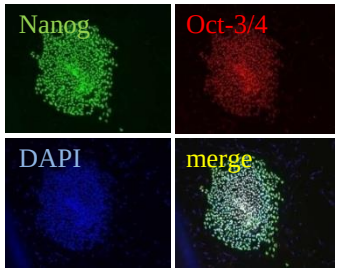
Gene expression analysis

Prediction system

More another testings: carninogenicity, Long repated dose testing, etc.

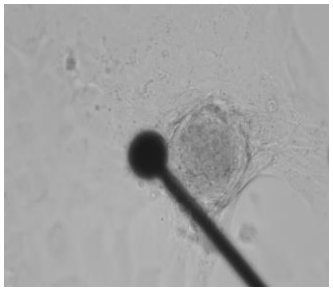
44

Cardiomyocytes

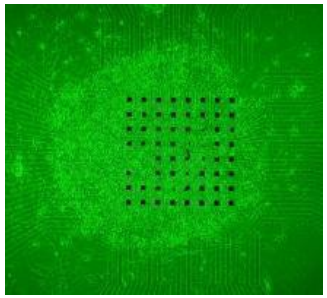


PS b

Differentiation



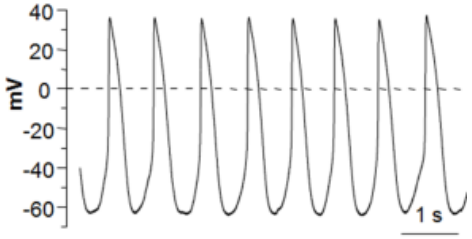
Beating EB



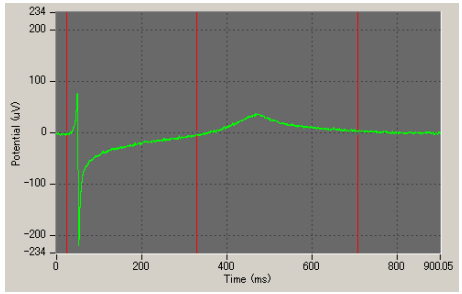
Monolayer sheet

Electrophysiological characterization of cardiomyocytes

- Action potential recording from single cells



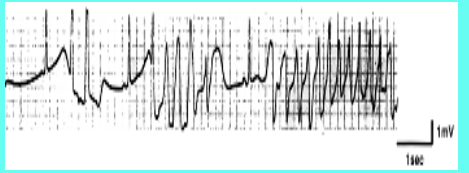
- Field potential recording



Can be they used for ……..

? EfQT gTP

? CiERG t

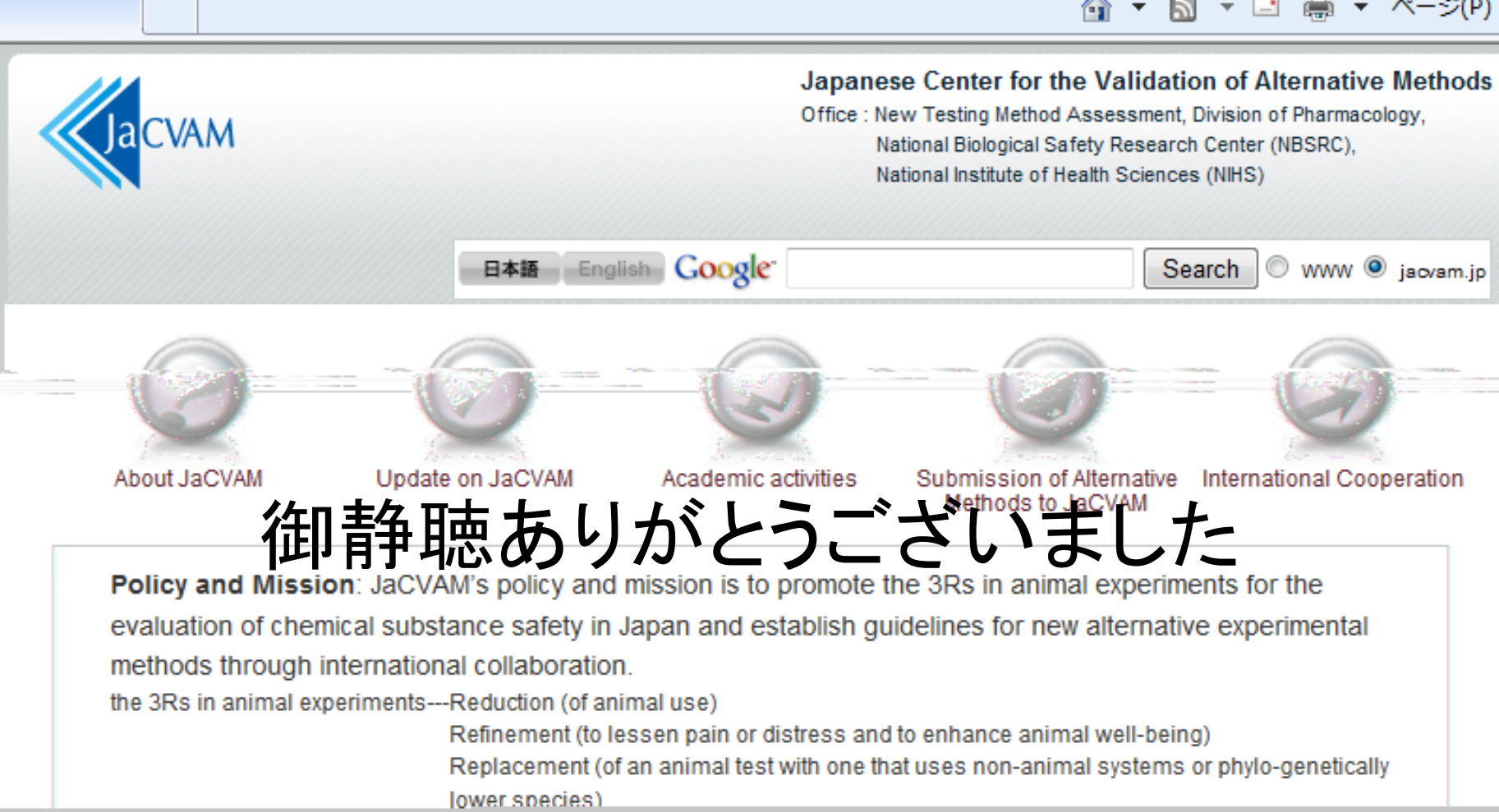


小括

- *In vitro*試験を軸にした安全性評価が拡大していくと考える。
- 現在、反復投与毒性試験代替法の開発が盛んである。
- ただし、動物を用いない代替法（ In vitro試験）のみで行政的な評価がなされることは難しい 。IATAやPharmacokinetics、ADMEなどの他の情報の利用が必要である。

総括

- 動物実験を用いない化粧品の開発は、国際的に普及していくと考える。
- 開発されている動物を用いない代替法は、皮膚刺激性、光毒性、遺伝毒性および眼刺激性試験に限られるが、問題点も多い。
- 現状では、医薬部外品の有用な成分の許認可に対し、動物を用いない代替法のみでは対処できない。



御静聴ありがとうございました

48