

北トピア、東京、2017年10月

国際環境における化粧品の 安全性評価の動向



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 第二室長
小島 肇

- The author has no conflict of interest to disclose with respect to this presentation.

目次

- 動物実験の 3 Rs
- 昨今の国際動向
- 昨今の国内動向
- 代替法を用いた安全性評価

動物実験の3Rs

(Russel and Burch 1959)

○ Replacement

動物を用いない方法に置き換える

(例) *In vitro* エンドトキシン試験法

○ Reduction

動物の使用数の削減

(例) 固定用量による単回投与試験

○ Refinement

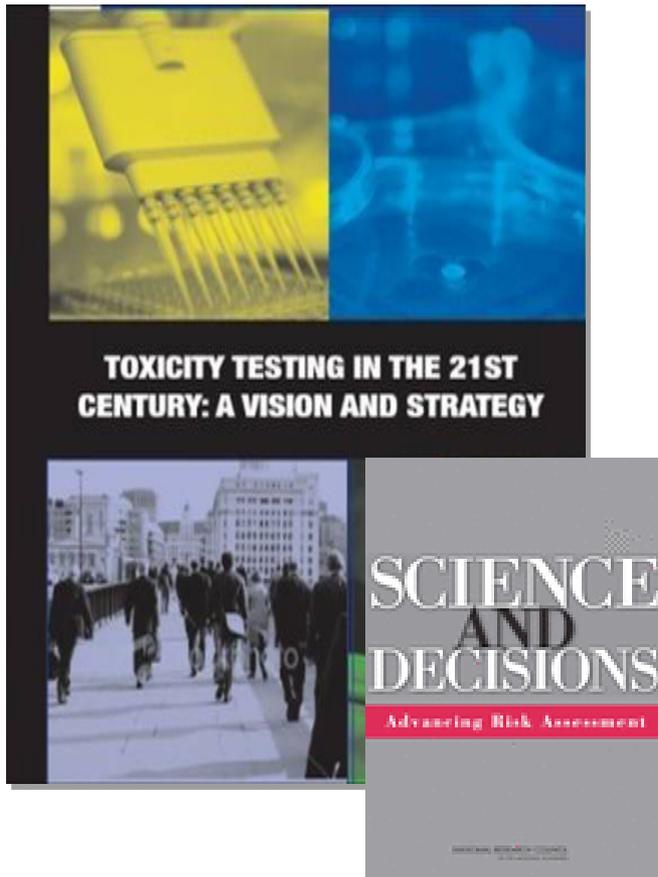
動物使用に伴う苦痛の削減

動物実験代替法

- **Alternative test = 代替法**
3R原則を実現する試験法
- **3Rs principle = 3R 原則**
使用動物数を削減すること(reduction)、実験動物の苦痛軽減と動物福祉を進めること(refinement)、および動物を用いる試験を動物を用いない、あるいは系統発生的下位動物を用いる試験法に置換すること(replacement)、という原則。

昨今の国際動向

The NTP Roadmap are consistent with the recent NAS Report



⑩ 2007 NRC Report:

- Calls for transforming toxicology: *“from a system based on whole-animal testing to one founded primarily on in vitro methods that evaluate changes in biologic processes using cells, cell lines, or cellular components, preferably of human origin.”*
- Envisions pathway-based toxicology, where pathway perturbations are used to predict adverse effects
- **2009 NRC report:** *“the realization of the promise [of the 2007 report] is at least a decade away”*

National Research Council. 2007. Toxicity Testing in the Twenty-first Century: A Vision and a Strategy. Washington, DC: National Academy of Sciences. Available: http://books.nap.edu/catalog.php?record_id=11970

Vision

- 1) to provide broad coverage of chemicals, chemical mixtures, outcomes, and life stages
- 2) To reduce the cost and time of testing
- 3) To use fewer animals and cause minimal suffering in the animals used
- 4) To development a more robust scientific basis for assessing health effects of environmental agents

TABLE 2-1 Options for Future Toxicity-Testing Strategies

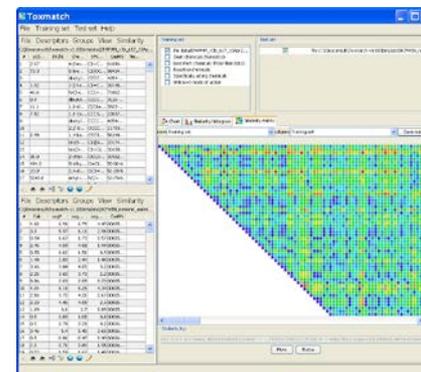
Option I In Vivo	Option II Tiered In Vivo	Option III In Vitro and In Vivo	Option IV In Vitro
Animal biology	Animal biology	Primarily human biology	Primarily human biology
High doses	High doses	Broad range of doses	Broad range of doses
Low throughput	Improved throughput	High and medium throughput	High throughput
Expensive	Less expensive	Less expensive	Less expensive
Time-consuming	Less time-consuming	Less time-consuming	Less time-consuming
Use of relatively large numbers of animals	Use of fewer animals	Use of substantially fewer animals	Use of virtually no animals
Based on apical end points	Based on apical end points	Based on perturbations of critical cellular responses	Based on perturbations of critical cellular responses
	Some screening using computational and in vitro approaches; more flexibility than current methods	Screening using computational approaches possible; limited animal studies that focus on mechanism and metabolism	Screening using computational approaches



Computational Toxicology: physicochemical and reactivity profiling of compounds/metabolites

CRAFT - Chemical Reactivity And Fate Tool

The CRAFT software interface consists of several windows. The 'Reaction Type Editor' window shows a chemical structure of a carbamate and a list of reaction types. The 'Terminal tert-butyl branch' window shows a decision tree diagram. The 'Toxtree (Estimation of Toxic Hazard - A Decision Tree Approach) v1.50' window displays a chemical structure and a list of rules for hazard estimation.



Toxmatch – Chemical grouping

The Endocrine-Active Chemicals Database (EACD) search interface includes a search bar, a list of chemical groups, and a chemical structure of a benzene ring. The interface is designed for searching and filtering chemicals based on various criteria.

Endocrine-Active Chemicals Database



Toxtree – Hazard estimation

High throughput testing



Compound management

Large datasets
using the standard
metabolic competent
system



Liquid handling robot



Cell culturing



Compound Repository

EU化粧品における動物実験規制

2003/3/11

2004/9/11

2009/3/11

2013/3/11

EU第7次
改正発効

各国国内法施行期限

<Testing ban>
化粧品最終製品：EU域内での即時禁止
成分：
危険物指令Annex V or 化粧品指令Annex IXで
規定された代替法がある場合、即時禁止
(光毒性・皮膚腐食性・経皮吸収性)

<marketing ban>
共同体レベルでバリデートされ採択された代替
法がある動物試験を実施した成分・最終処方を
使用した化粧品の即時販売禁止
(光毒性・皮膚腐食性)

<Testing ban>
成分：EU域内での即時禁止

<marketing ban>
動物試験した成分 / 最終処方を
使用した化粧品の完全販売禁止
*ただし、毒物動態・生殖毒性
・反復投与毒性試験は除外さ
れる

<marketing ban>
動物試験した成分
/ 最終処分を使用
した化粧品の完全
販売禁止

*ただし、毒物動態
・生殖毒性・反復
投与毒性試験の
代替法開発状況
によっては、期
限延長もあり得る

- 国内法施行までは代替法
- のある動物実験でも
- 実施可能

- 代替法ができた時点で即時禁止
- (禁止時期以前に動物実験を実施したものは規制対象外)

NEWS EUROPE

[Home](#)[UK](#)[Africa](#)[Asia](#)[Europe](#)[Latin America](#)[Mid-East](#)[US & Canada](#)[Business](#)[Health](#)[Sci/Environment](#)

11 March 2013 Last updated at 17:23 GMT



EU bans sale of all animal-tested cosmetics

A complete ban on the sale of cosmetics developed through animal testing has taken effect in the EU.

The ban applies to all new cosmetics and their ingredients sold in the EU, regardless of where in the world testing on animals was carried out.

The 27 EU countries have had a ban on such tests in place since 2009. But the EU Commission is now asking the EU's trading partners to do the same.

Animal rights lobbyists said EU officials had "listened to the people".

The **anti-vivisection group BUAV and the European Coalition to End**



The search for alternatives to animal testing goes on

Related Stories

UK retains strict animal test law

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

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。

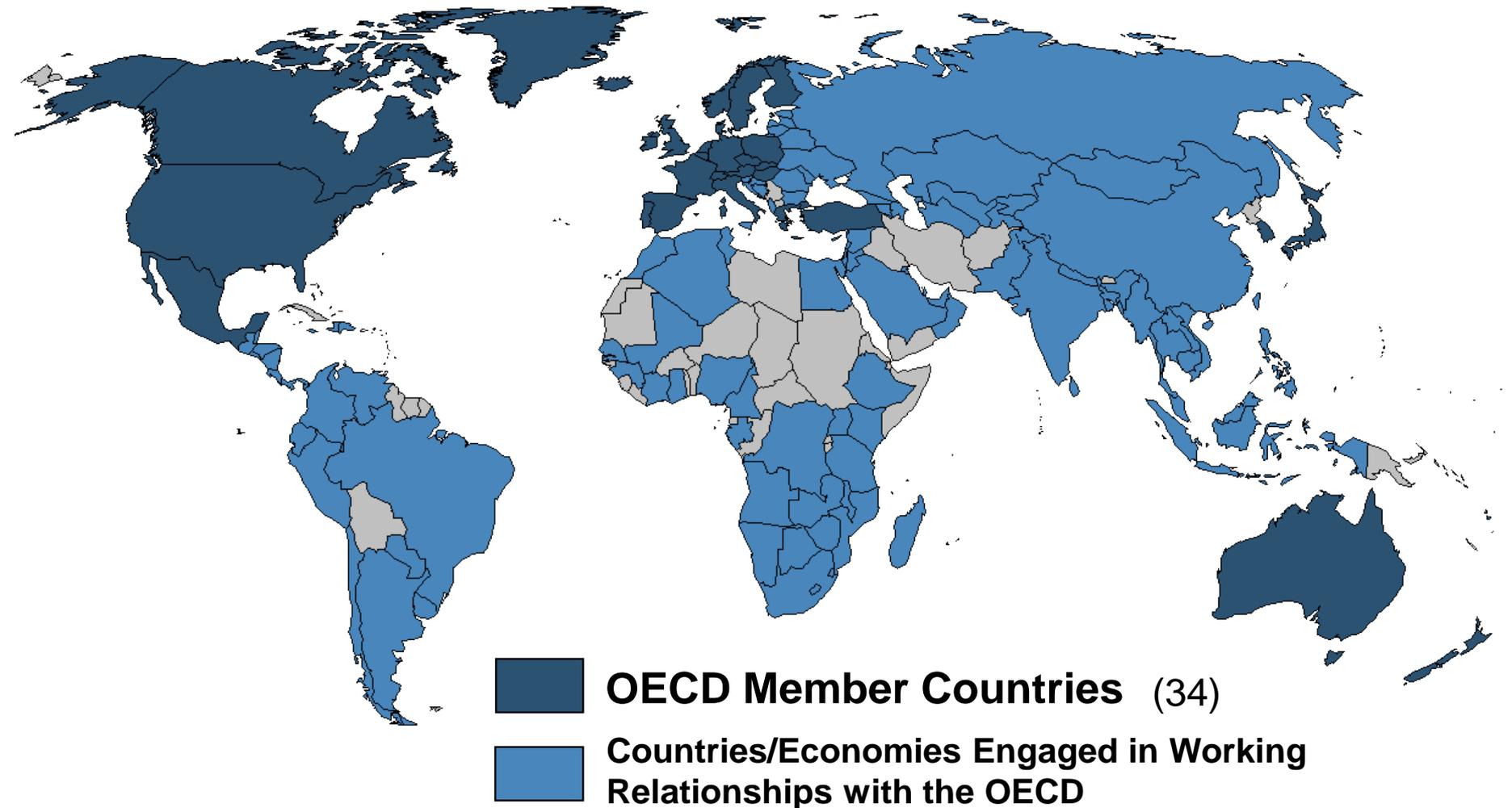
動物実験に対する考え方

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、ステインギングテスト等）および動物実験代替法を適用しており、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。

OECD加盟国および関係国



APPLY INTEGRATED APPROACHES TO TESTING AND ASSESSMENT

All of the work on alternative methods is undertaken at the OECD with the objective of contributing to more integrated approaches to testing and assessment. In practice, integrated approaches, which take into account the tools outlined above, are used in the OECD Existing Chemicals Programme which generates internationally agreed initial hazard assessments of chemicals.

This practical application of integrated approaches improves their regulatory acceptance and facilitates their implementation into national and regional chemical assessment schemes in OECD member countries.

AVOID DUPLICATION OF TESTING

The OECD **Mutual Acceptance of Data (MAD)** framework has had a major impact on testing practices. MAD guarantees that data generated in the testing of chemicals in an OECD member country, or adhering non-member country, in accordance with OECD Test Guidelines and OECD Principles of Good Laboratory Practice shall be accepted in other member or adhering countries for purposes of chemical assessment and other uses relating to the protection of man and the environment. This proactive framework saves thousands of animals every year and its impact increases as non-OECD economies join the MAD system.

Furthermore, the OECD has developed the **Global Portal to Information on Chemical Substances (eChemPortal)**. eChemPortal offers free public access to information on properties of chemicals through a simultaneous search of multiple databases, thereby improving the access to existing test results and reducing the risk of unnecessary testing.

WHERE CAN I FIND OECD TOOLS RELATED TO CHEMICAL SAFETY AND ANIMAL WELFARE ?

(Q)SARs, Grouping of Chemicals and the (Q)SAR Application Toolbox

www.oecd.org/env/existingchemicals/qsar

Test Guidelines, *in vitro* test methods, molecular screening and toxicogenomics

www.oecd.org/env/testguidelines

Integrated Approaches to Testing and Assessment

www.oecd.org/env/existingchemicals

Mutual Acceptance of Data

www.oecd.org/env/qlp

Global Portal to Information on Chemical Substances

www.oecd.org/ehs/eChemPortal

© Photos
Getty Images, 2005
KaYann-Fotolia.com



© OECD 2009
For more information contact
the OECD Secretariat at
ehscont@oecd.org

Chemical Safety and Animal Welfare



Progress made
at the OECD



www.oecd.org/env/ehs

OECDの基本指針

- 動物実験の3Rsを念頭に試験法ガイドライン(TG)を承認する。
- TGの開発には、バリデーションを必須とする。
- 適用限界を明確にし、偽陰性が限りなく少ないTGを開発する。
- データは各国が相互利用できる。

Numbers of OECD Test Guideline (2016)

Section	Project	Numbers
1	Physical-Chemical properties	24
2	Effects on Biotic Systems	44
3	Degradation and Accumulation	20
4	Health Effects	67 (<i>in vitro</i> 23)
5	Other Test Guidelines	10
Total		165

動物実験代替法が関与したOECDのTG(2016)

分類	試験法
皮膚腐食性試験	CORROSITEX Skin Corrosivity Test :TG435
	<i>In vitro</i> skin corrosion: reconstructed human epidermis (RHE) test method :TG431
	<i>In vitro</i> skin corrosion: Transcutaneous Electrical Resistance Test Method (TER) :TG430
皮膚刺激性試験	<i>In vitro</i> reconstructed human epidermis (RhE) test methods, EpiDerm, EPIKIN, SkinEthic, LabCyte EPI-Model: TG439
光毒性試験	3T3 NRU Phototoxicity Test :TG432
眼刺激性試験	Reconstructed human Cornea-like Epithelium (RhCE) test method for identifying chemicals not requiring classification and labelling for eye irritation or serious eye damage: TG492
	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: TG491
	Fluorescein Leakage (FL) test method: TG460
	Isolated Chicken Eye (ICE) Test Method :TG438
	Bovine Corneal Opacity and Permeability (BCOP) Test Method :TG437
	Eye Irritation/Corosion: TG405
皮膚感作性試験	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
	In Vitro Skin Sensitisation h-CLAT :TG442E
	Updated Murine local lymph node assay (LLNA) for skin sensitization :TG42920

動物実験代替法が関与したOECDのTG(2016)

分類	試験法
単回投与毒性試験	Inhalation toxicity - acute toxic class method : TG436
	Up and Down Procedure (UDP): TG425
	Acute Toxic Class Method (ATC) : TG423
	Fixed Dose Procedure (FDP) : TG420
内分泌かく乱スクリーニング	Stably Transfected Transactivation <i>In Vitro</i> Assays to Detect Androgen Receptor Test : TG458
	Performance-Based Test Guideline for Human Recombinant Estrogen Receptor (hrER) <i>In Vitro</i> Assays to Detect Chemicals with ER Binding Affinity :TG493
	H295R Steroidogenesis Assay :TG456
	Performance-Based Test Guideline for Stably Transfected Transactivation <i>In Vitro</i> Assays to Detect Estrogen Receptor Agonists Test : TG455
遺伝毒性試験	<i>In vitro</i> Mammalian Cell Gene Mutation Tests Using the Thymidine Kinase Gene :TG490
	<i>In vitro</i> micronucleus test : TG487
	<i>In vitro</i> Mammalian Cell Gene Mutation Test : TG476
	<i>In vitro</i> Mammalian Chromosome Aberration Test : TG473
	Bacterial Reverse Mutation Test : TG471
経皮吸収試験	Skin Absorption: <i>In Vitro</i> Method :TG428

[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**.

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 Project Turns One



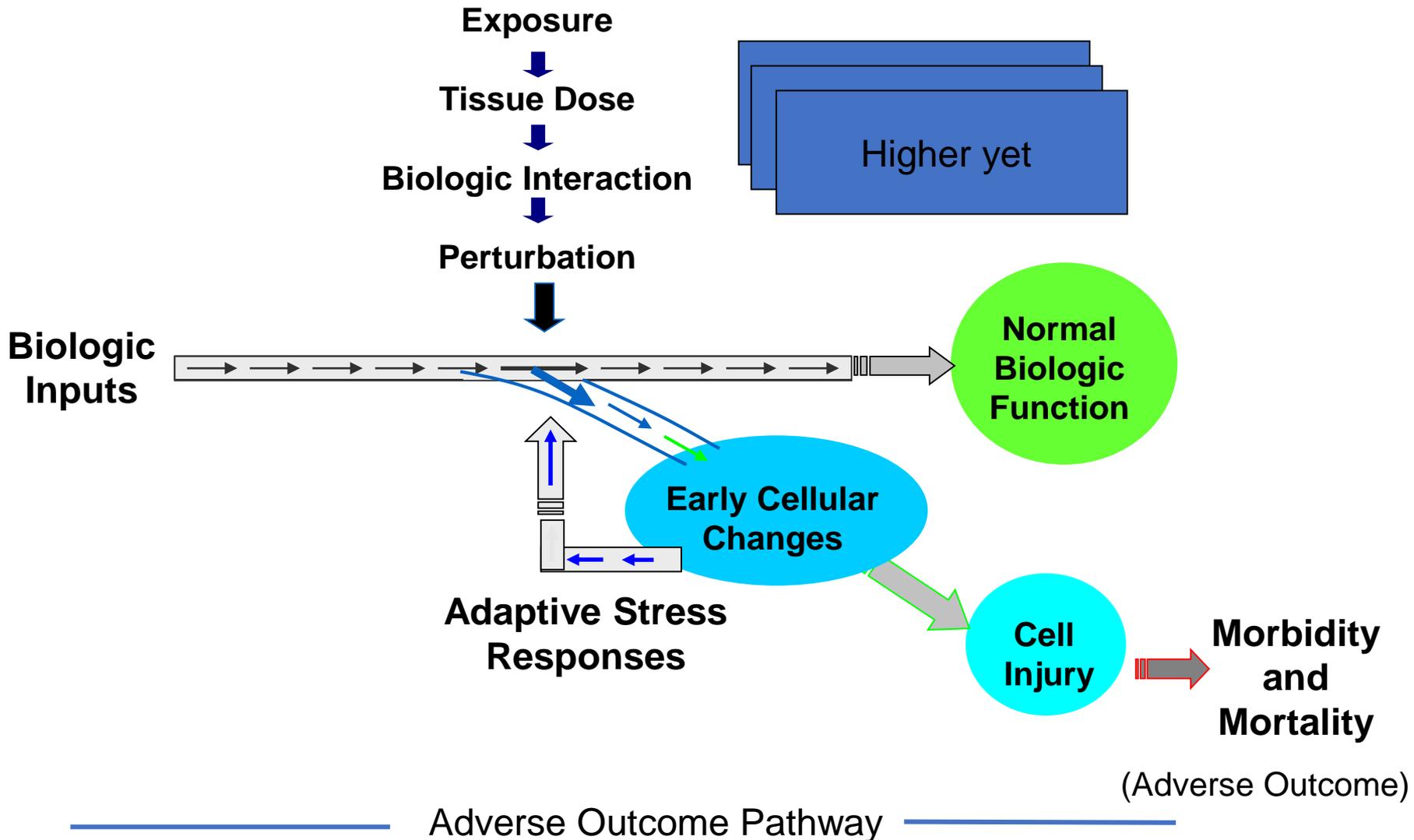
together in integrated testing strategies. In particular, we have been working in the last six months to initiate the different case studies that will ultimately

I am proud to introduce to you the first issue of the *EU-ToxRisk Newsletter*. After a highly dynamic first year the EU-ToxRisk project just entered already its second year. As coordinator of the project it has been an exciting year where the various aspects of the project have started. This included aligning technologies as well as testing novel advanced model systems. These different technologies and model systems will ultimately cluster

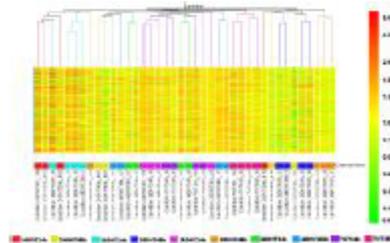
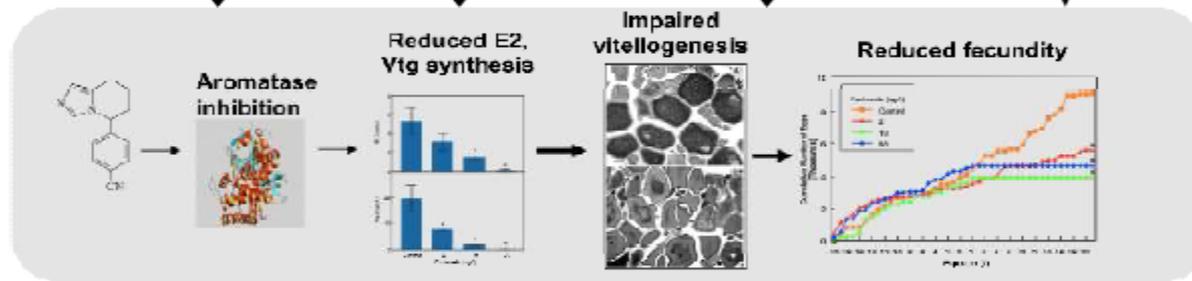
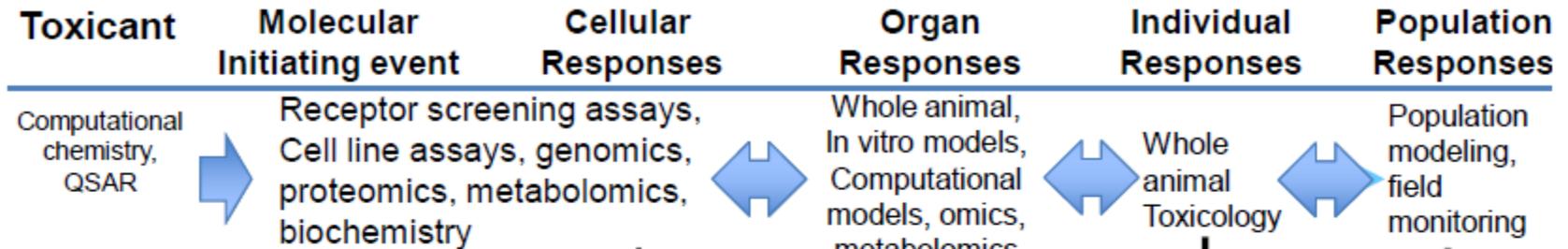
drive the selection of technologies and models that are fit-for-purpose for regulatory decision making. I am particularly proud that we have received highly positive responses from various regulatory authorities that will provide advice to the case studies during the project. The experimental work within these case studies have now started intensively. Also, our collaboration with our US Tox21 partners is taking shape. With this regular *EU-ToxRisk Newsletter* we want to keep you up to date on the development of the project and the successes we achieved. In this first issue, I am happy to introduce you to the overall project concepts, strategies. and models that make and (will) shape EU-ToxRisk.

Bob van de Water, Leiden Academic Centre for Drug Research (LACDR), Leiden University (The Netherlands), and coordinator of the EU-ToxRisk project

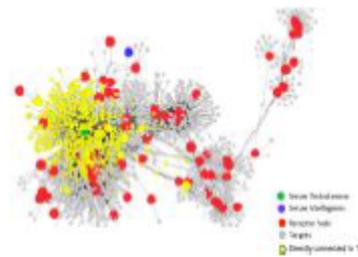
Perturbation of Toxicity Pathways



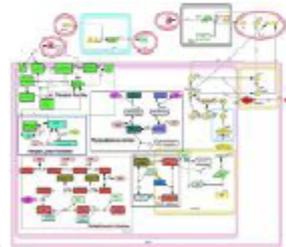
AOP and alternative animals in human health assessment



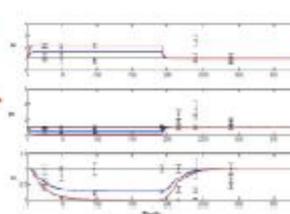
Screening for toxicological effects and chemicals



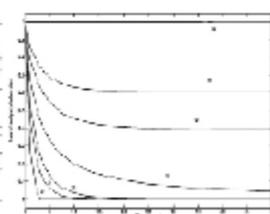
Pathway and network impacts



Mechanistic modeling



Predicted effect



Population impact

The AOP concept can be used as a framework for the development of Integrated Approaches to Testing and Assessment (IATA)



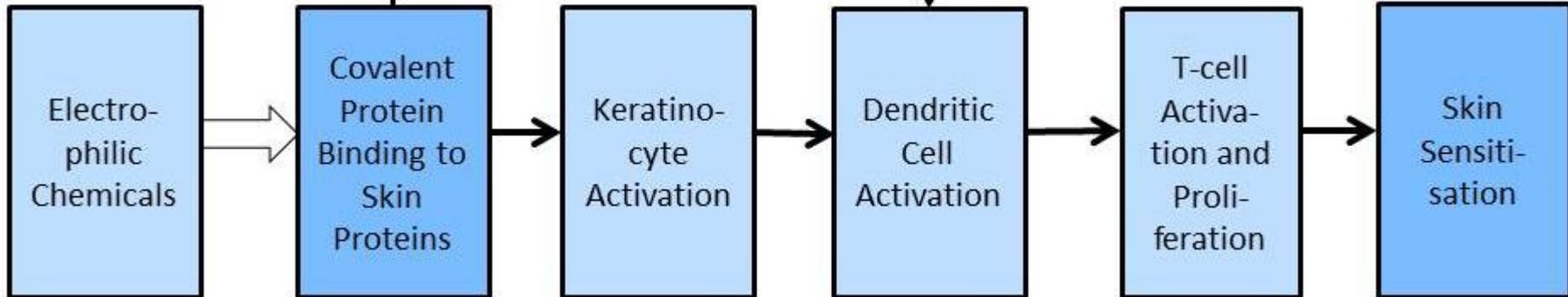
Chemical
Structure/
Properties

MIE

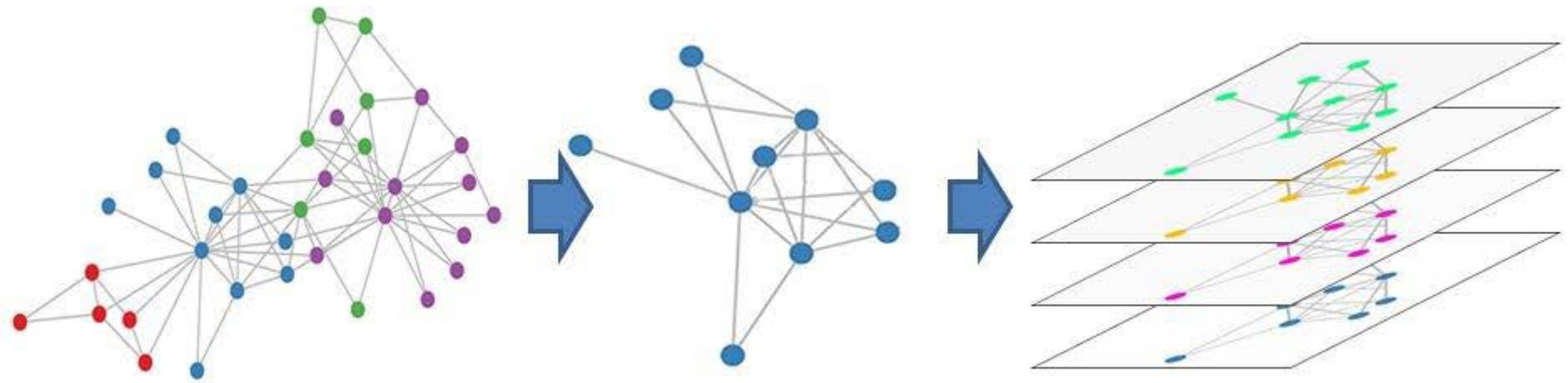
Cellular Level

Tissue
Level

Organ
Level

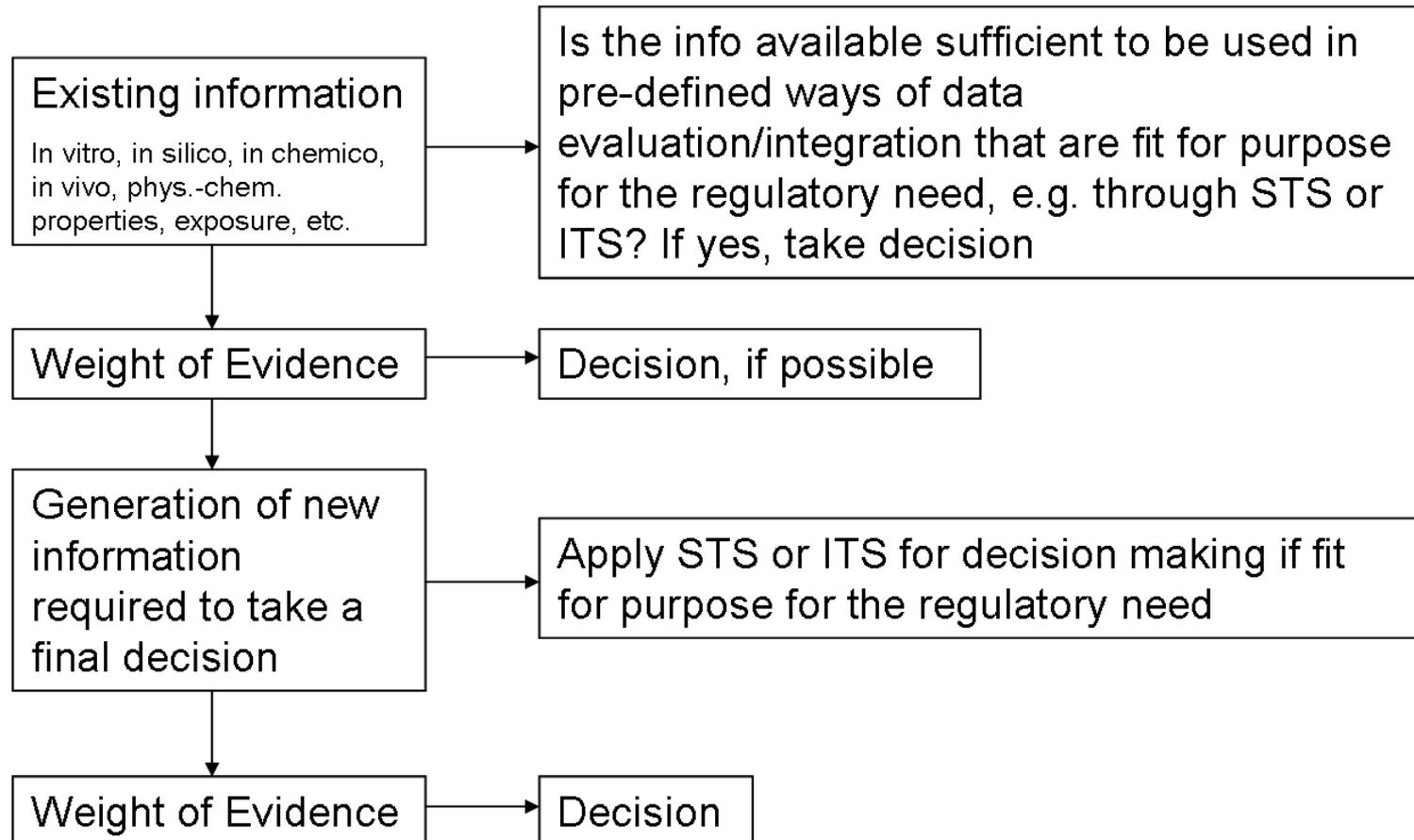


Further information on description of AOP Network Development, and explanation of filters Filters Layers



Structured versus free-text fields in the AOP-KB relative to computational applications

IATA (integrated approach on testing and assessment) framework



ICCR (International Cooperation on
Cosmetics Regulations: **化粧品協力規制国際
会議**)と

ICATM (International Cooperation on
Alternative Test Methods: **代替試験法協力国**



INTERNATIONAL COOPERATION ON COSMETICS REGULATION
Joint Regulator - Industry Working Group
***IN SILICO* APPROACHES FOR SAFETY ASSESSMENT OF
COSMETIC INGREDIENTS**

Report is: Prepared For ICCR **ICCR Report** ICCR Guidance

Contributors:

Renata Teixeira do Amaral	Brazilian Association of Personal Cosmetics, Toiletry and Fragrance, Av. Paulista, 1313. Cj.1080. zipcode:01311-923; São Paulo – SP – Brazil
Jay Ansell:	Personal Care Products Council, 1620 L Street, NW, Washington, DC 20036, USA.
Nora Aptula:	SEAC, Unilever, Colworth Science Park, United Kingdom.
Takao Ashikaga:	Shiseido, Quality Assessment Center, Safety Technology Development Group, Japan.
Qasim Chaudhry (Chair):	The Food and Environment Research Agency, Sand Hutton, York YO41 1LZ, United Kingdom.
Akihiko Hirose:	Division of Risk Assessment, Biological Safety Research Center, National Institute of Health Sciences, Japan.
Joanna Jaworska (Co-Chair):	Procter & Gamble, Modeling & Simulation, Biological Systems, Temselaan 100, 1853 Strombeek-Bever, Belgium.
Hajime Kojima:	Japanese Center for the Validation of Alternative Methods, Biological Safety Research Center, National Institute of Health Sciences, Japan.

REPORT FOR THE INTERNATIONAL COOPERATION ON COSMETICS REGULATION

Joint Regulators-Industry Working Group: **Integrated Strategies for Safety Assessments of Cosmetic Ingredients - Part I**

Report is:

Prepared for ICCR

ICCR Report

ICCR Guidance

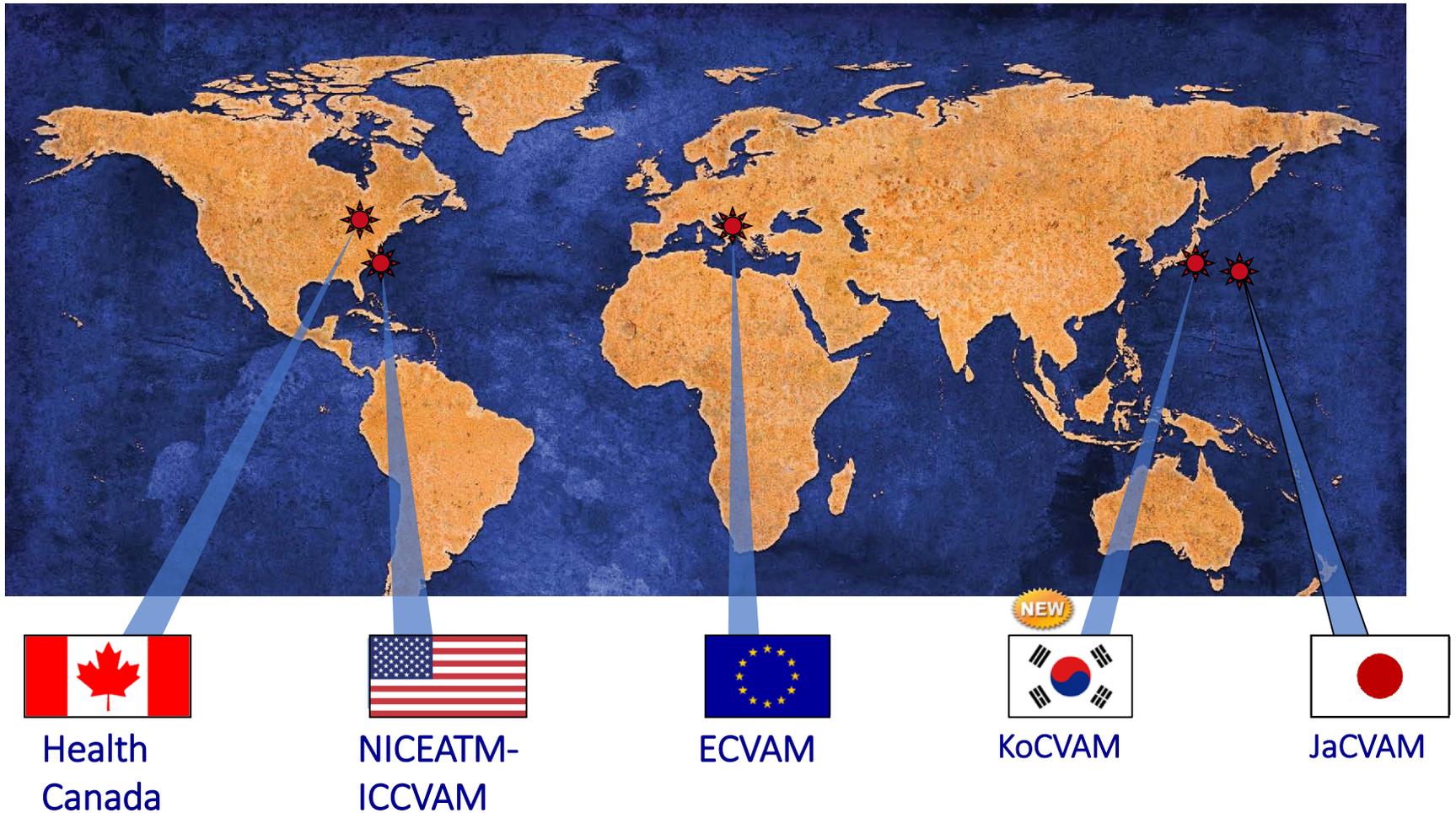
Authors:

Renata Amaral (1), Pedro Amores Da Silva (1), Jay Ansell (2), Fanny Boisleve (3), Matt Dent (4)#, Masato Hatao (5), Akihiko Hirose (6), Yutaka Kasai (7), Hajime Kojima (6)#, Petra Kern (8), Reinhard Kreiling (9), Stanley Milstein (10), Julcemara Oliveira (11), Andrea Richarz (12), Rob Taalman (13), Eric Vaillancourt (14), Rajeshwar Verma (10), Nashira Campos Vieira (11), Craig Weiss (15)

- 1) Brazilian Association of the Cosmetic, Toiletry and Fragrance Industry (ABIPHEC), Av. Paulista, 1313 Cerqueira César, São Paulo, SP 01311-000, Brazil
- 2) US Personal Care Products Council (PCPC), 1620 L St. NW, Suite 1200, Washington, D.C. 20036, USA
- 3) Johnson & Johnson Santé Beauté France, Domaine de Maigremont, CS 10615, F-27106 VAL DE REUIL Cedex, France
- 4) Unilever Safety and Environmental Assurance Centre, Colworth Science Park, Sharnbrook, Bedfordshire MK44 1LQ, UK (Co-Chair)
- 5) Japan Cosmetic Industry Association (JCIA), Metro City Kamiyacho 6F, 5-1-5, Toranomom, Minato-ku, Tokyo, 105-0001 Japan
- 6) National Institute of Health Sciences, 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, 158-8501, Tokyo, Japan
- 7) Kao corporation, External Relations & Government Affairs 2-1-3, Bunka, Sumida-Ku, Tokyo, 131-8501 Japan
- 8) Proctor and Gamble Services Company NV, Temselaan 100, B-1853 Strombeek-Bever, Belgium

ICATM cooperation

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



ICATM Members

- ICATM founded 27 April 2009 (JaCVAM, NICEATM, ECVAM, Health Canada)
- KoCVAM (Republic of Korea's Centre for the Validation of Alternative Methods) became the fifth member March 8, 2011, Washington DC

The addition of KoCVAM complements the capacities of ICATM



**Signing of
Memorandum of
Cooperation**

現状

- 欧米主導で、動物実験からの脱却が進んでいる。
- 化粧品のための動物実験は存在しないと考えるべきである。
- OECDの基本的な考え方から、化学物質等のための動物実験も厳しくなる一方である。
- しかし、適切な代替法は少なく、化粧品の安全性評価に利用できる段階にはない。

昨今の国内動向

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

平成24年の動愛法改定

衆・参議院の付帯決議で、

「実験動物の取扱いに係る法制度の検討に際しては、関係者による自主管理の取組及び関係府省による実態把握の取組を踏まえつつ、国際的な規制の動向や科学的知見に関する情報の収集に努めること。また、関係府省との連携を図りつつ、3 R（Replacement：置換え、Reduction：使用数の削減、Refinement：苦痛の軽減）の実効性の強化等により、実験動物の福祉の実現に努めること」が記載された。

JaCVAMの歴史

2005年11月 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薬理部 新規試験法評価室内に臨時の組織が設立

2011年4月 正式な組織に昇格

JaCVAMの目的

1. 国際的な協力の下、日本で開発された方法をOECDのガイドラインとする。
2. 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、公表する。



JaCVAM運営委員会

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

毒性部

病理部

動物管理室

薬理部

変異遺伝部

安全性予
測評価部

厚生労働省

国立感染症研究所

PMDA

医薬部外品の承認申請資料作成等における動物実験代替法の利用と JaCVAMの活用促進について (平成23年2月4日審査管理課事務連絡)

- 国内では**JaCVAM: Japanese Center for the Validation of Alternative Methods**(日本動物実験代替法評価センター)が、国際的な動物実験代替法開発の取組みである**ICATM: International Cooperation on Alternative Test Methods**(代替試験法協力国際会議)と連携し、動物実験代替法に関する情報を取りまとめ、また、新規開発及び改定された動物実験代替試験法の妥当性評価を行い、その評価結果等を公表しています。
- 医薬部外品の承認申請資料の作成においては、下記に示す**JaCVAMのホームページ**に掲載されている情報も参考の上、**適切な資料を作成し**、また化粧品のポジティブリスト改正要望等においても**活用が図られるよう**、貴管下関係業者に対し周知をお願いします。

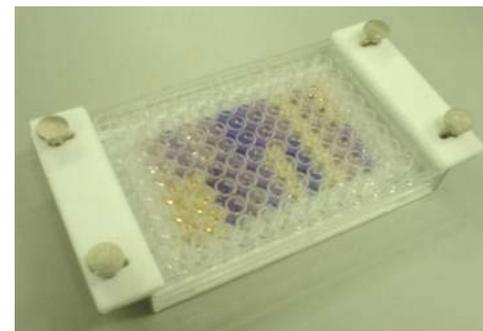
日本発のOECD TGまたはGD

- ✓ Skin sensitization assay, LLNA : DA, TG 442A (2010)
- ✓ Skin sensitization assay, LLNA : BrdU-ELISA , TG 442B (2010)
- ✓ *In vivo* comet assay TG 489 (2014)

- ✓ Skin irritation assay with LabCyte EPI-MODEL 24, TG 439 (2013)
- ✓ Performance-based Test Guideline for stably transfected transactivation *in vitro* assays to detect estrogen receptor agonists and antagonist, Revised TG 455 (2015)
- ✓ Short time exposure (STE) assay for eye irritation testing TG490 (2015)
- ✓ Bhas 42 cell transformation assay (2016) Guidance document
- ✓ h-CLAT assay for skin sensitisation testing (2016)
- ✓ Stable transfected transcriptional activation (STTA) assay for androgen disruptor screening (AR-Ecoscreen)(2016)
- ✓ Performance-Based Test Guideline for Human Recombinant Estrogen Receptor (hrER) In Vitro Assays to Detect Chemicals with ER Binding Affinity (2016)
- ✓ IL-8 Luc assay for skin sensitization testing(2017)

ICH S10の中の*in vitro*光安全性試験

Method	Current Status	Lead Action Organization	International Acceptance
3T3 NRU Phototoxicity Test	Completed		OECD TG 432 (2004)
<i>In vitro</i> test method based on reactive oxygen species (ROS) and photostability	Peer review of the JaCVAM-sponsored validation study finalized in 2013.	JaCVAM; EURL ECVAM, NICEATM- ICCVAM, Health Canada and KoCVAM VMT liaisons	ICH S10 including the ROS assay and the 3T3 NRU test method was completed in 2014



OECDで検討中の日本で開発されたTG案

- ✓ Vitrigel-EIT for eye irritation testing
- ✓ LabCyte CORNEA-MODEL for eye irritation testing
- ✓ Hand-1 Luc EST for developmental screening
- ✓ ROS assay for photosafety testing

INTERNATIONAL CONFERENCE ON HARMONISATION OF TECHNICAL
REQUIREMENTS FOR REGISTRATION OF PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE

ICH HARMONISED TRIPARTITE GUIDELINE

PHOTOSAFETY EVALUATION OF PHARMACEUTICALS

S10

Update on JaCVAM (15.June / 2009 updated)

Classification	Test name	Validation study	Peer review	Regulatory acceptance	Recommendation to government	OECD	Collaboration
01 Corrosivity test	(1)Reconstructed human tissue test made in Japan: Vitrolife-Skin	Feb-09 	Jun-08 	Jun-08 	Aug-08 	Guideline No.431 	JSAAE
02 Phototoxicity test	(1)3T3-NRU	BfR 	Nov-04 			Guideline No.432 	
	(2)Yeast growth inhibition phototoxicity assay and the red blood cell photohemolysis assay	Jan-09 	May-09 	on going 			JSAAE
03 Skin sensitization test	(1)LLNA-DA	Jun-07 	Feb-08 	Oct-08 	Nov-08 		JSAAE
	(2)LLNA-BrdU	Aug-08 	Feb-09 	on going 			JSAAE
	(3)h-CLAT	start in 2009 					
	(4)LLNA						
	(5)rLLNA	ECVAM, ICCVAM 	start in 2009 				ICCVAM
04 Skin irritation test	(1)Reconstructed human tissue test	ECVAM ^c 	Nov-08 	on going 		Draft test guideline 	ECVAM
	(2)Reconstructed human tissue test made in Japan	May-09 					JSAAE

代替法を用いた安全性評価

ウサギ眼刺激試験（ドレイズ）法 Draize test

- 1940年代に米国で開発された試験法：
- ウサギの眼に被験物質を投与し、生体反応（眼局所）を観察する
- 鋭敏で簡便である
- 化粧品の安全性試験法として米国FDAが推奨（勧告）した
- 動物実験反対運動の攻撃対象となった
- OECDではTG405として汎用されてきた

Draize 試験でよく使われる画像



Draize試験の動物を用いない試験

- 牛摘出角膜（BCOP）法 OECD TG437
BCOP（Bovine Corneal Opacity and Permeability Test）
- ニワトリ摘出眼球（ICE）法 OECD TG438
ICE法（Isolated Chicken Eye Test）
- フルオレセイン漏出試験法 OECD TG460
- 短時間暴露法 OECD TG491
- 再構築ヒト角膜表皮モデル法 OECD TG492

まずはin vitro試験の実施

OECD TG405眼刺激試験の改訂

- 2012 改訂
- ウサギ眼刺激試験の実施方法の提示（引き続き試験続行）
- 詳細な（苦痛軽減に関する）試験方法も提示
 - 鎮痛治療法
 - 鎮痛薬の種類、投与量、投与時期
 - 眼局所麻酔薬の種類、投与方法、投与期間
 - エンドポイントの設定事前の設定
 - 試験中の苦痛臨床観察
 - 試験中の苦痛臨床診断
 - 総合的に苦痛観察診断を行う者（選任獣医師、実験動物獣医師等）

OECD/OCDE

442E

Adopted:
29 July 2016

化学物質の試験に関する OECD ガイドライン

In vitro 皮膚感作性：ヒト細胞株活性化試験 (h-CLAT)

最初に考慮すべき事項および限界

8. 皮膚感作性物質は、DC の活性化に伴い細胞膜マーカーの発現を誘発すると報告されている (2) 。そのため、DC の活性化に関連する単球活性のマーカーを測定する h-CLAT のような試験法は (20) 、化学物質の皮膚感作性の評価に適していると考えられる。ただし、DC 活性化は皮膚感作性 AOP の 1 つの主要な事象のみを示すため、DC 活性化のマーカーを測定する試験法により得られる情報は、それ自体で、化学物質の皮膚感作性がないと結論づけるには十分ではない。したがって、h-CLAT により得られたデータは、IATA などの統合的アプローチに照らした他の補足情報 (例えば、皮膚感作性 AOP の別の主要な事象を対象とした *in vitro* 試験の情報や、類似化学物質からの推定などの試験を伴わない情報) との組み合わせで検討すべきである。

9. 本試験法ガイドライン記載の試験法を用いることにより、IATA に照らして皮膚感作性物質 (すなわち、UN GHS におけるカテゴリ-1) と非感作性物質を識別することができる。本試験法ガイドラインを単独で用いて、皮膚感作性物質を当局が UN GHS (1) で定義したサブカテゴリである 1A および 1B に分類することはできず、安全性評価に際し、皮膚感作性の強さを予測することもできない。ただし、特定の規制の枠組みによっては、h-CLAT での陽性結果を単独で用いて、化学物質を UN GHS におけるカテゴリ-1 に分類できる場合がある。

10. h-CLAT は、細胞培養技術とフローサイトメトリー分析の経験がある実験室への技術移管が可能であることが確認されている。本試験法から見込まれる予測結果の再現性は、同一施設内および複数の施設間でいずれも約 80%であった (11) (21)。バリデーション試験 (22)、および発表された他の研究 (23) から得られたすべての結果によると、LLNA の結果と比較した場合、皮膚感作性物質 (すなわち、UN GHS におけるカテゴリー1) と非感作性物質とを識別する正確度は 85% (N=142)、感度は 93% (94/101)、特異度は 66% (27/41) であった (段落 12 記載のとおり、Log Kow が 3.5 を超える化学物質の陰性結果を含めないすべての既存データでの EURL ECVAM (21) による再解析に基づく)。h-CLAT での偽陰性結果の予測は、皮膚感作性の強度が高い (high) 化学物質 (すなわち、UN GHS におけるサブカテゴリー1A) よりも、皮膚感作性の強度が低い (low) ~中程度 (moderate) の化学物質 (すなわち、UN GHS におけるサブカテゴリー1B) で懸念される可能性がより高い (12) (22) (24)。総合すると、これら情報は、h-CLAT は、皮膚感作性の有害性の識別に有用であることを示している。なお、本試験法は、IATA に照らし上記段落 9 の条項に従って、他の情報と組み合わせて検討されるべきであることから、h-CLAT を単独の試験法として示された正確度の値は指標にすぎない。さらに、動物を用いない皮膚感作性試験法を評価する場合、LLNA 試験およびそれ以外の動物試験の結果は、ヒトにおける皮膚感作性を完全に反映しているとはいえないことに留意すべきである。

12. h-CLAT は、適切な溶媒／媒体（段落 21 参照）に可溶であるか安定した分散液（すなわち、被験物質が沈殿することも、溶媒／媒体から分離して異相を示すこともないコロイドまたは懸濁液）となる被験物質に適用可能である。Log Kow が 3.5 を超える被験物質は、偽陰性結果をもたらす傾向がある（23）。そのため、Log Kow が 3.5 を超える被験物質で得られた陰性結果は、判断に用いてはならない。ただし、Log Kow が 3.5 を超える被験物質で得られた陽性結果については、被験物質を皮膚感作性物質であると判断できる。さらに、h-CLAT に用いられる細胞株の代謝能が限定的であること（25）、また、h-CLAT の実験条件からプロハプテン（すなわち、酵素 P450 を介するなど酵素による活性化を要する物質）、および特に酸化速度が遅いプレハプテン（すなわち、酸化により活性化される物質）も陰性結果を示す場合がある（24）。蛍光被験物質は h-CLAT で評価できるが（26）、フルオレセイン・イソチオシアネート（FITC）またはヨウ化プロピジウム（PI）と同じ波長の強い蛍光被験物質は、フローサイトメトリーによる検出を干渉するため、FITC 標識抗体または PI を用いて正確に評価できない。このような場合、他の蛍光色素で標識された抗体、または他の細胞毒性マーカーが、例えば、補遺 II 収載の習熟度確認物質により、それぞれ FITC 標識抗体（段落 31 参照）、または PI（段落 25 参照）と同様の結果をもたらすことが示される場合に限り、用いることができる。上記を踏まえて、陰性結果は、限られた範囲内の情報、および IATA の枠組み内の他の情報源とともに解釈すべきである。他の特定のカテゴリーに属す被験物質に h-CLAT が適用できない証拠が示される場合、h-CLAT は、そのようなカテゴリーに属す物質に用いるべきではない。

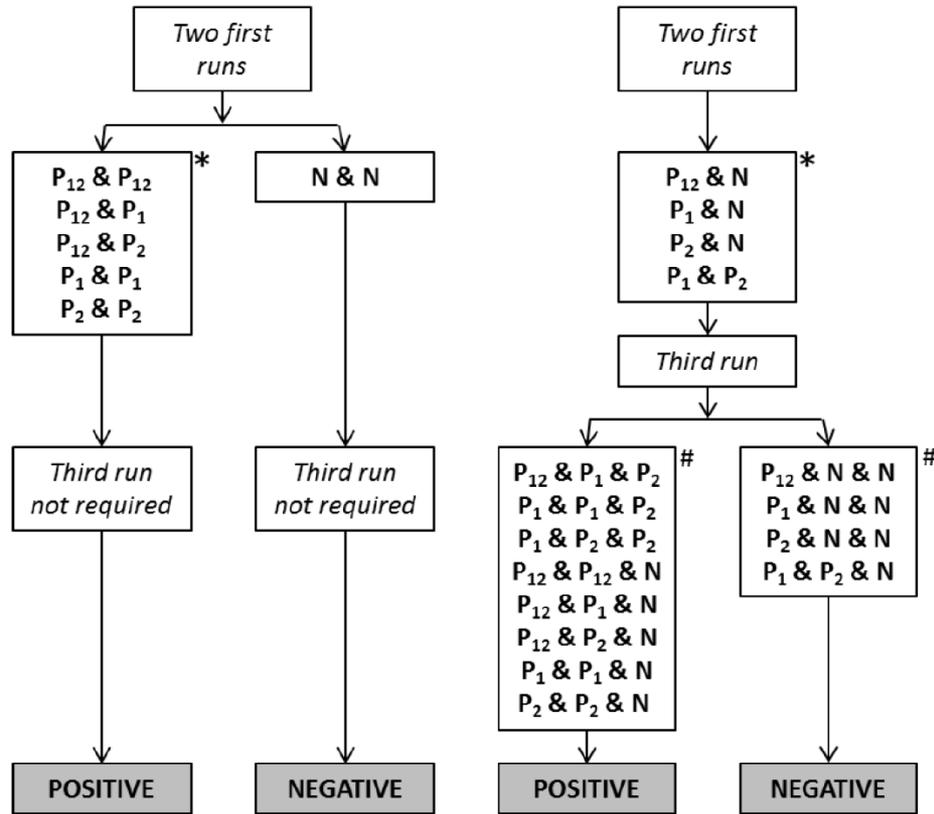


図1：h-CLAT で用いられる予測モデル。h-CLAT による予測は、IATA の枠組みの中で、また、段落9、11 および12 の条項に従って検討すること。P₁：CD86 のみ陽性、P₂：CD54 のみ陽性、P₁₂：CD86 および CD54 とも陽性、N：CD86 および CD54 とも陰性。*最初の測定から得た結果に関連する組合せを、その得られた順序とは関係なく枠内に示す。#上段の枠で示した最初の2回の測定で得られた結果に基づき、3回目の測定結果に関連する組合せを枠内に示す。ただし、得られた結果の順序は反映していない。

34. h-CLAT で陽性と予測された被験物質の場合、CD86 では EC150、CD54 では EC200 の 2 つの効果濃度 (Effective Concentrations : EC) 、すなわち被験物質が 150 または 200 の RFI を誘発する濃度を、必要に応じて求められる。これらの EC 値は、IATA などの統合的アプローチ (12) (13) (14) (15) (16) の中で用いられた場合、感作性の強度の評価 (3) が可能な場合がある。EC 値は、次の式により算出できる。

$$\begin{aligned} \text{EC150 (CD86 の場合)} &= B_{\text{濃度}} + [(150 - B_{\text{RFI}}) / (A_{\text{RFI}} - B_{\text{RFI}}) \times (A_{\text{濃度}} - B_{\text{濃度}})] \\ \text{EC200 (CD54 の場合)} &= B_{\text{濃度}} + [(200 - B_{\text{RFI}}) / (A_{\text{RFI}} - B_{\text{RFI}}) \times (A_{\text{濃度}} - B_{\text{濃度}})] \end{aligned}$$

ここで

$A_{\text{濃度}}$ は、RFI が 150 超 (CD86 の場合) または 200 超 (CD54 の場合) となる最低濃度 ($\mu\text{g/mL}$)

$B_{\text{濃度}}$ は、RFI が 150 未満 (CD86 の場合) または 200 未満 (CD54 の場合) となる最高濃度 ($\mu\text{g/mL}$)

A_{RFI} は、RFI が 150 超 (CD86 の場合) または 200 超 (CD54 の場合) となる最低濃度での RFI

B_{RFI} は、RFI が 150 未満 (CD86 の場合) または 200 未満 (CD54 の場合) となる最高濃度での RFI

EC150 および EC200 のより正確な値を得るためには、独立した 3 回の *CD86/CD54* 発現測定が必要となる場合がある。そこで EC150 および EC200 の最終的な値は、3 回の独立した測定から算出された EC の中央値として求められる。3 回のうち 2 回のみ陽性基準 (段落 33 参照) を満たす場合は、算出された 2 つの値のより高い EC150 または EC200 の値が採用される。

許容基準

35. h-CLAT を用いる場合、次の許容基準を満たすこと (22) (27)。
- 培地対照および溶媒／媒体対照の細胞生存率が 90%より高いこと。
 - 溶媒／媒体対照において、CD86 および CD54 の RFI 値が陽性基準 (CD86 の場合 150% 以上、CD54 の場合 200%以上) を超えないこと。溶媒／媒体対照の RFI 値は、段落 32 記載の式を用いて算出する (「化学物質の MFI」は「溶媒／媒体の MFI」に、「溶媒／媒体の MFI」は「(培地) 対照の MFI」に置き換える)。
 - 培地および溶媒／媒体の両対照では、CD86 および CD54 のアイソタイプ対照に対する MFI 比が 105%を超えること。
 - 陽性対照 (DNCB) において、CD86 および CD54 の RFI 値が陽性基準 (CD86 の場合 150% 以上、CD54 の場合 200%以上) を満たし、細胞生存率が 50%を超えること。
 - 被験物質の場合、細胞生存率が各測定において少なくとも 4 つの試験濃度で 50%を超えること。
36. 陰性結果は、最高試験濃度において 90%未満 (すなわち、段落 27 記載の段階希釈法に従って $1.2 \times CV75$) の細胞生存率を示す被験物質のみに当てはまる。 $1.2 \times CV75$ での細胞生存率が 90%以上の場合、陰性結果は無効とする。このような場合、再度 CV75 の求め、用量設定をやり直すことが推奨される。生理食塩水 (または培地、またはその他の溶媒／媒体) では 5000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、DMSO では 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 、または最高可溶濃度が、被験物質の最大試験濃度として用いられた場合、細胞生存率が 90%を上回っても陰性結果は許容されることに留意する。

表 1 : h-CLAT の習熟度確認の立証に推奨される物質

習熟度評価用の物質	CAS 登録番号		<i>In vivo</i> における予測 ¹	($\mu\text{g}/\text{mL}^2$) の基準範囲	の h-CLAT 結果 (EC150 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) の基準範囲) ²	の h-CLAT 結果 (EC200 ($\mu\text{g}/\text{mL}$) の基準範囲) ²
2,4-ジニトロクロロベンゼン	97-00-7	固体	感作性物質 (非常に強い [extreme])	2-12	陽性 (0.5-10)	陽性 (0.5-1.5)
4-フェニレンジアミン	106-50-3	固体	感作性物質 (強い [strong])	5-95	陽性 (<40)	陰性 (>1.5) ³
硫酸ニッケル	10101-97-0	固体	感作性物質 (中程度 [moderate])	30-500	陽性 (<100)	陽性 (10-100)
2-メルカプトベンゾチアゾール	149-30-4	固体	感作性物質 (中程度 [moderate])	30-400	陰性 (>10) ³	陽性 (10-140)
R (+) -リモネン	5989-27-5	液体	感作性物質 (弱い [weak])	>20	陰性 (>5) ³	陽性 (<250)
イミダゾリジニル尿素	39236-46-9	固体	感作性物質 (弱い [weak])	25-100	陽性 (20-90)	陽性 (20-75)
イソプロパノール	67-63-0	液体	非感作性物質	>5000	陰性 (>5000)	陰性 (>5000)
グリセロール	56-81-5	液体	非感作性物質	>5000	陰性 (>5000)	陰性 (>5000)
乳酸	50-21-5	液体	非感作性物質	1500-5000	陰性 (>5000)	陰性 (>5000)
4-アミノ安息香酸	150-13-0	固体	非感作性物質	>1000	陰性 (>1000)	陰性 (>1000)

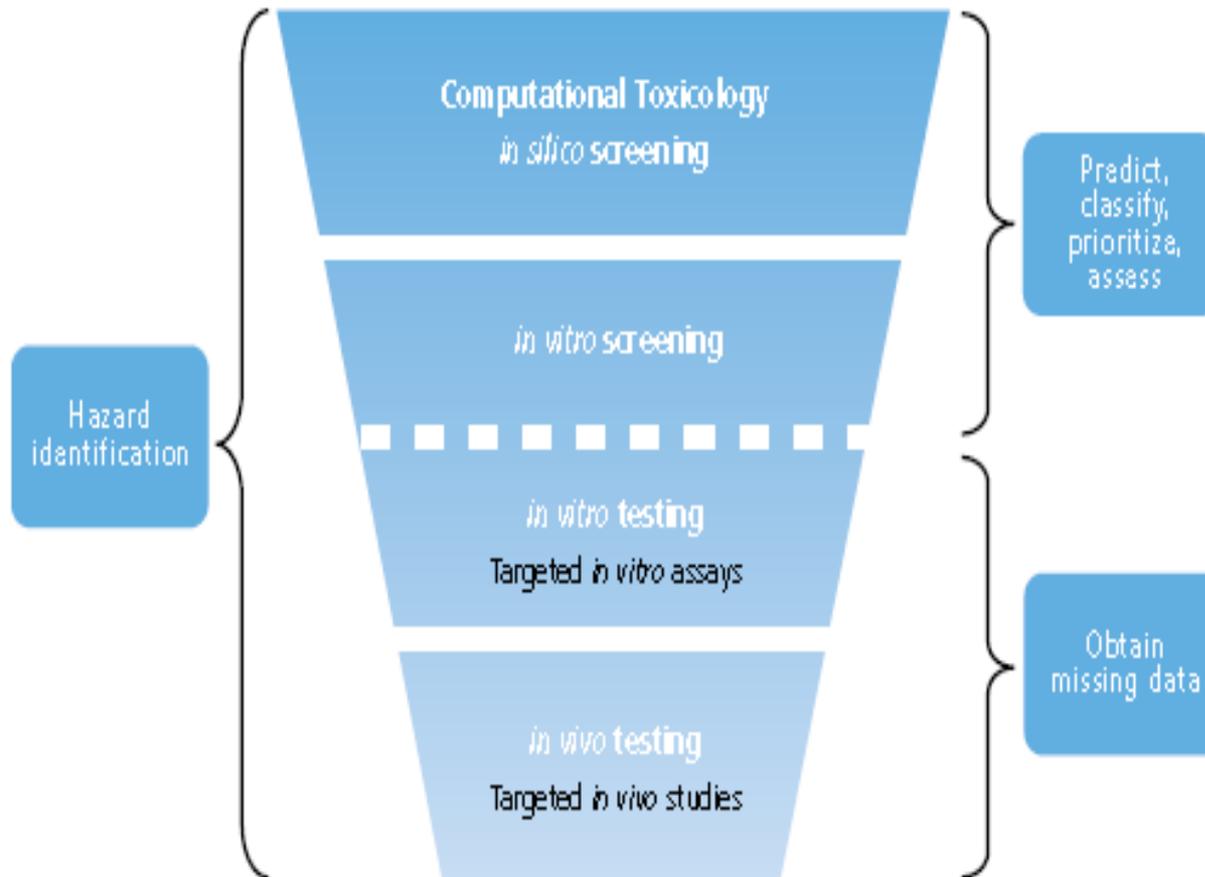
略語 : CAS RN = CAS 登録番号 (CAS Registry Number: CAS RN)

¹ *in vivo* における危険有害性 (および強度) の予測結果は、LLNA データ (11) (23) に基づく。*in vivo* における強度は、欧州化学物質生態毒性および毒性センター (ECETOC) (31) により提唱された基準を用いて得られている。

² 既存の測定値 (22) (32) に基づく。

³ 既存の陰性結果の大部分は本マーカーで得られた。従って陰性結果が、主に予測される。記載の範囲は、認められた数少ない既存の陽性結果に基づき定義された。陽性結果が得られた場合、EC 値は報告された基準範囲内でなければならない。

GUIDANCE DOCUMENT ON THE EVALUATION AND APPLICATION OF **INTEGRATED APPROACHES TO TESTING AND ASSESSMENT (IATA)** FOR SKIN SENSITISATION



Case study	Purpose	
1	An Adverse Outcome Pathway-based "2 out of 3" integrated testing strategy approach to skin hazard identification (BASF)	Hazard identification
2	Sequential Testing Strategy (STS) for hazard identification of skin sensitizers (RIVM)	Hazard identification
3	A non-testing Pipeline approach for skin sensitisation (G. Patlewicz)	Hazard identification
4	Stacking meta-model for skin sensitisation hazard identification (L'Oréal)	Hazard identification
5	Integrated decision strategy for skin sensitisation hazard (ICCVAM)	Hazard identification
6	Consensus of classification trees for skin sensitisation hazard prediction (EC- JRC)	Hazard identification
7	Sensitizer potency prediction based on Key event 1 + 2: Combination of kinetic peptide reactivity data and KeratinoSens® data (Givaudan)	Potency prediction
8	The artificial neural network model for predicting LLNA EC3 (Shiseido)	Potency prediction
9	Bayesian Network DIP (BN-ITS-3) for hazard and potency identification of skin sensitizers (P&G)	Potency prediction
10	Sequential testing strategy (STS) for sensitising potency classification based on in chemico and in vitro data (Kao Corporation)	Potency prediction
11	Integrated testing strategy (ITS) for sensitising potency	Potency prediction

Artificial Neural Network (ANN) analysis



In vitro test data

h-CLAT

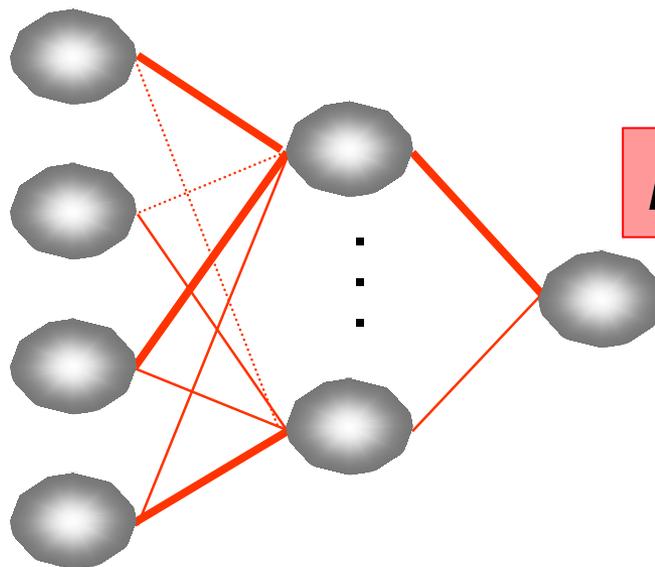
DPRA-Cys

DPRA-Lys

KeratinoSens

Other biomarkers

Input layer



Hidden layer

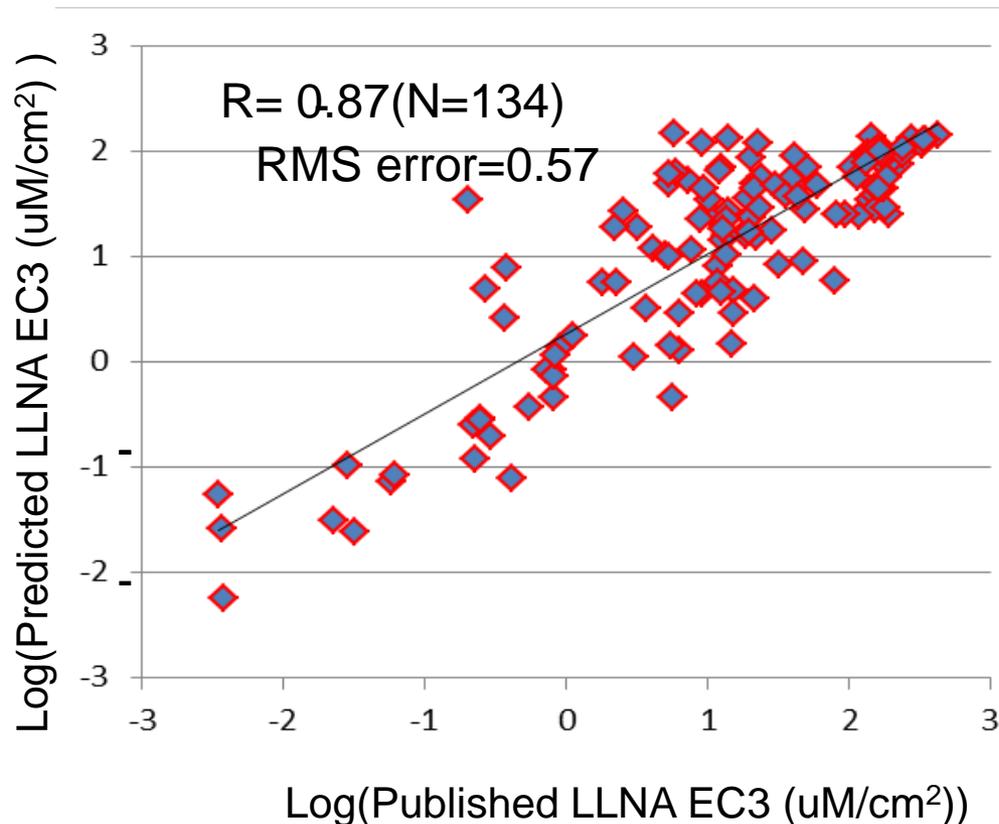
In vivo test data

LLNA EC3

- EC3 values for LLNA positive chemicals
- For LLNA negative chemicals, 101% was used as EC3 value (converted to $\mu\text{M}/\text{cm}^2$ unit).

Output layer

Correlation between LLNA and the ANN prediction



After 10-fold
cross-validation

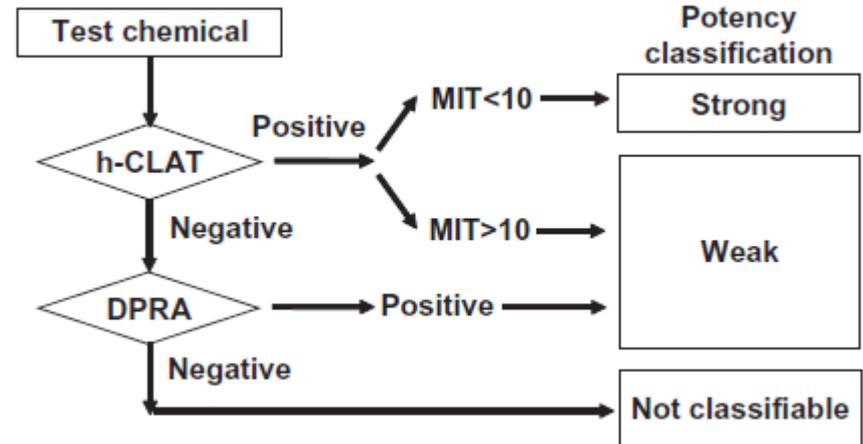
*Root mean square (RMS) error = $\sqrt{\sum ((\text{measured value} - \text{predicted value})^2) / \text{number of data}}$

This ANN model showed a good correlation between predicted values and actual values. Therefore, our ANN model can contribute to building a new QRA evaluation system which is using no animals.

Kao STS & ITS

Kao Sequential (Tiered) Testing Strategy (STS)

- DPRA (KE1) and h-CLAT (KE3)
- Predicting the three potency classes not classified, weak ($EC3 \geq 1\%$), strong ($EC3 < 1\%$)



Kao Integrated (Score-based) Testing Strategy (ITS)

- DPRA, Derek (KE1) and h-CLAT (KE3)
- Predicting the three potency classes not classified, weak ($EC3 \geq 1\%$), strong ($EC3 < 1\%$)

Table 4. Conversion of the outcome in h-CLAT, DPRA and DEREK for integrated testing strategy

Score	h-CLAT MIT ($\mu\text{g ml}^{-1}$)	DPRA depletion (%) (cysteine only)	DEREK Alert
0	Not calculated	< 6.376 (< 13.89)	No alert
1	$> 150, \leq 5000$	$\geq 6.376, < 22.62$ ($\geq 13.89, < 23.09$)	Alert
2	$> 10, \leq 150$	$\geq 22.62, < 42.47$ ($\geq 23.09, < 98.24$)	-
3	≤ 10	≥ 42.47 (≥ 98.24)	-

DPRA, direct peptide reactivity assay; h-CLAT, human cell line activation test; MIT, minimal induction threshold.

Total score of 0-1: not classified,
of 2-6: weak, of 7: strong

Kao STS & ITS compared to LLNA data

Excluding negative results of chemicals with $\log K_{ow} > 3.5$

Kao STS (n=139)

- Hazard accuracy : 81% (10 FN, 17 FP)
- Potency accuracy : 69% (20 under, 23 over)

Kao ITS (n=139)

- Hazard accuracy : 84% (11 FN, 11 FP)
- Potency accuracy : 71% (18 under, 12 over)

Kao STS (n=129)

- Hazard accuracy : 85% (2 FN, 17 FP)
- Potency accuracy : 73%

Kao ITS (n=128)

- Hazard accuracy : 89% (3 FN, 11 FP)
- Potency accuracy : 74%

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ダンス

1. IATA defined approach に基づく皮膚感作性評価

1-1. 基本的な考え方

皮膚感作性は複雑な免疫系の全身反応であるため、単純化された単一の代替法で *in vivo* 皮膚感作性を評価することは困難である。IATA は概念的枠組みとしての AOP を皮膚感作性評価に応用し、一連の皮膚感作成立過程における代表的な主な事象(1. タンパク質との結合、2. ケラチノサイトの活性化、3. 樹状細胞の活性化、4. T 細胞の活性化および抗原特異的 T 細胞の増殖)を評価するための物理化学的性状、*in silico* モデル、構造活性相関、*in vitro* 試験、*in vivo* 試験、ヒト試験などの成績を複数組み合わせることが重要とされている⁽⁸⁾。一方、IATA では情報をどのように組み合わせるかなどの重み付けは、ある程度専門家の判断に任されていることから、客観的評価のためには明確なルールに基づいた、より厳密な方法である defined approach が重要とされている⁽⁸⁾。

代替法普及のため発出したガイダンス

- 化粧品・医薬部外品の安全性評価に係る光毒性試験代替法（3T3 NRU）を活用するためのガイダンス
- 化粧品・医薬部外品の安全性評価に係る感作性試験代替法（LLNA）を活用するためのガイダンス
- 化粧品・医薬部外品の安全性評価に係る感作性試験代替法（LLNA：DA）を活用するためのガイダンス
- 化粧品・医薬部外品の安全性評価に係る感作性試験代替法（LLNA:Brd-ELISA）を活用するためのガイダンス
- 化粧品・医薬部外品の安全性評価に係る眼刺激性試験代替法（BCOP）を活用するためのガイダンス
- 化粧品・医薬部外品の安全性評価に係る眼刺激性試験代替法（ICE）を活用するためのガイダンス
- 化粧品・医薬部外品の安全性評価に係る皮膚透過性試験を活用するためのガイダンス

**厚生労働省、化粧品業界、国立衛研、皮膚科医のメンバーで
より代替法の活用を促すガイダンスを作成。**

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ダンス

表. ボトムアップ 3 out of 3 の予測性

	vs human data			vs LLNA data			N
	感度	特異度	一致率	感度	特異度	一致率	
	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	[%]	
LLNA	92	65	85	-	-	-	
ボトムアップ 3 out of 3	97	35	81	99	43	86	100

各 { 都 道 府 県
保健所設置市
特 別 区 } 衛生主管部（局）長 殿

厚生労働省医薬・生活衛生局
医薬品審査管理課長
(公 印 省 略)

毒物劇物の判定基準の改定について（通知）

1. 毒物劇物の判定基準の改定の内容について

(1) 有効な動物実験代替法による知見の活用について

毒劇法は、主として急性毒性等により毒物又は劇物に指定するなどの規制を行っており、指定に際し毒性評価を実施するに当たり、動物実験の知見を重要視してきた。しかしながら、近年では欧州を中心に動物愛護の観点から動物実験を廃止する動きがあり、国内でも動物実験を必要最小限に抑える方向にある。当該判定基準にも、動物実験を実施しない場合に動物実験代替法（以下「代替法」という。）による毒性評価を用いる考え方は既に取り込まれているが、具体的に有効な代替法の内容が十分に明確化されていないため、今般、毒物又は劇物の判定に用いることが出来る有効な代替法を例示し、当該判定基準に取入れることにより、明確にした。

また、例示した代替法を用いた知見については、毒物劇物の製剤の除外においても、活用可能とした。

④ 皮膚腐食性

以下に挙げる代替法は、皮膚腐食性物質を同定する試験として推奨されるとした。

- ・ OECD TG 430 (*in vitro* 皮膚腐食性：経皮電気抵抗試験 (TER))
- ・ OECD TG 431 (*in vitro* 皮膚腐食性：ヒト3次元培養表皮モデル*1)
ただし、皮膚刺激性については、上記腐食性の2試験は用いることができないため、動物実験の代替法として再現度を上げるならば OECD TG 439 (*in vitro* 皮膚刺激性試験) の実施も考慮することができるとした。

⑤ 眼等の粘膜に対する重篤な損傷

以下に挙げる代替法は、眼腐食性物質及び強度刺激性物質を同定する試験として推奨されるとした。

- ・ OECD TG 437*2
- ・ OECD TG 438*3
- ・ OECD TG 460*4
- ・ OECD TG 491*5

*1: ヒト3次元培養表皮モデルとして、EpiSkin™、EpiDerm™、SkinEthics™、epiCS®が掲載。Vitrolife-Skin は当該 TG には未掲載であるものの、バリデーションが行われ JaCVAM にて評価済みである。

*2: i) 眼腐食性及び強度刺激性物質、ii) 眼腐食性及び強度刺激性物質を引き起さない物質を同定するためのウシ摘出角膜を用いる混濁度及び透過性試験 (Bovine Corneal Opacity and Permeability Test : BCOP)

*3: i) 眼腐食性及び強度刺激性物質、ii) 眼腐食性及び強度刺激性物質を引き起さない物質を同定するためのニワトリ摘出眼球を用いる試験 (Isolated Chicken Eye Test : ICE)

*4: 眼腐食性及び強度刺激性物質を同定するためのフルオレセイン漏出試験 (Fluorescein Leakage Test Method for Identifying Ocular Corrosives and Severe Irritants : FL)

*5: i) 眼腐食性及び強度刺激性物質、ii) 眼腐食性及び強度刺激性物質を引き起さない物質を同定するための *in vitro* 短時間暴露法 (Short Time Exposure Assay for Eye Irritation Testing : STE)

EU化粧品における動物実験規制

2003/3/11

2004/9/11

2009/3/11

2013/3/11

EU第7次
改正発効

各国国内法施行期限

<Testing ban>
化粧品最終製品：EU域内での即時禁止
成分：
危険物指令Annex V or 化粧品指令Annex IXで
規定された代替法がある場合、即時禁止
(光毒性・皮膚腐食性・経皮吸収性)

<marketing ban>
共同体レベルでバリデートされ採択された代替
法がある動物試験を実施した成分・最終処方を
使用した化粧品の即時販売禁止
(光毒性・皮膚腐食性)

<Testing ban>
成分：EU域内での即時禁止

<marketing ban>
動物試験した成分 / 最終処方を
使用した化粧品の完全販売禁止
*ただし、毒物動態・生殖毒性
・反復投与毒性試験は除外さ
れる

<marketing ban>
動物試験した成分
/ 最終処分を使用
した化粧品の完全
販売禁止

*ただし、毒物動態
・生殖毒性・反復
投与毒性試験の
代替法開発状況
によっては、期
限延長もあり得る

- 国内法施行までは代替法
- のある動物実験でも
- 実施可能

- 代替法ができた時点で即時禁止
- (禁止時期以前に動物実験を実施したものは規制対象外)

化粧品の安全性に *In vitro*試験法を使用するために

- **TG**の予測性と適用限界を把握する。
- **TG**と論文、公開プロトコルでは食い違う場合があるので、ガイダンスや**TG**で最終的な方法を確認する。
- 習熟度確認物質にて、プロトコルに習熟する。
- プロトコルは更新されることから、最新の情報収集に努める。

第30回



The 30th Annual Meeting of
the Japanese Society for Alternatives to Animal Experiments

日本動物実験代替法学会

会期 2017年11月23日(木・祝)～25日(土)

会場 大田区産業プラザ (PiO)

東京都大田区南蒲田1丁目20-20

大会長 小島 肇 国立医薬品食品衛生研究所

テーマ

レギュラトリーサイエンスと3Rs



池上本門寺

日本語

English

Google

Search



www



jaovam.jp



About JaCVAM



Update on JaCVAM



Academic activities



Submission of Alternative
Methods to JaCVAM



International Cooperation

Policy and Mission: JaCVAM's policy and mission is to promote the 3Rs in animal experiments for the evaluation of chemical substance safety in Japan and establish guidelines for new alternative experimental methods through international collaboration.

the 3Rs in animal experiments—Reduction (of animal use)

御静聴ありがとうございました

Replacement (to lessen pain or distress and to enhance animal well-being)
Refinement (of an animal test with one that uses non-animal systems or phylo-genetically
lower species)
(OECD GD34)

News

📧 **[NEW]** news texts dummy texts news texts dummy texts

news texts dummy texts(2009.7.16)

📧 news texts dummy texts news texts (2009.7.3)

📧 news texts dummy texts news texts dummy texts news

texts dummy texts (2009.7.3)

Contents

📧 About JaCVAM

Message from JaCVAM / Policy and Mission of JaCVAM /

Organization of JaCVAM / Glossary /

Proposal for Engagement Rules

📧 JaCVAM Activities