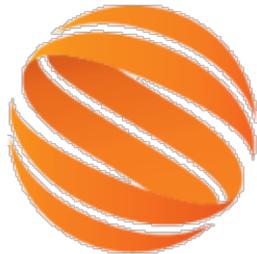


日本動物実験代替法学会第37回大会  
SL-2  
令和6年12月1日（日）  
ライトキューブ宇都宮、栃木

# JaCVAMの成果と今後の課題



公立大学法人 山陽小野田市立  
**山口東京理科大学**  
Sanyo-Onoda City University

山陽小野田市立山口東京理科大学工学部  
国立医薬品食品衛生研究所  
小島 肇

# 日本動物実験代替法学会第37回大会 発表時の開示 (申告すべきCOI状態がある場合)

## COI 開示

発表者名： 小島 肇<sup>1,2,3</sup>

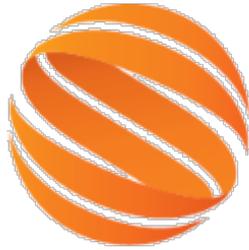
1:山陽小野田市立山口東京理科大学 工学部

2:国立医薬品食品衛生研究所

3:一般財団法人 食品薬品安全センター

演題発表内容に関連し、発表者に開示すべき利益相反はありません。

本発表内容は、所轄の厚生労働省の行政施策を代表するものでも、それにより制約されるものでもありません



公立大学法人 山陽小野田市立  
**山口東京理科大学**  
 Sanyo-Onoda City University

Nurturing key people in the community



HOME Information For prospective students **For current students** For graduates For Parents For local residents For companies English



University Introduction

Undergraduate and Graduate School

Campus Life

Employment/Further study

Collaboration with Tokyo University of Science

Research and Social Contribution

Libraries and research institutions

**University Introduction**  
Summary

- Founding spirit, basic philosophy, and educational policy ▶
- "Three skills" honed through Only One education ▶
- Create the Future ▶
- Greetings ▶
- History ▶
- School emblem and logo ▶
- University Organization ▶
- Dissemination of information ▶



**Founding spirit, basic philosophy, and educational policy**  
 Founding Spirit / Basic Philosophy / Educational Policy

Top Page ▶ University Introduction ▶ Founding spirit, basic philosophy, and educational policy

Contact Us  
Req



工学部 Faculty of Engineering

# 医薬工学科

Department of  
Pharmaceutical Engineering

学部の詳細はこちら



ライフサイエンスと  
データサイエンスの  
両方に精通した人材を育成。

### 学びのポイント

医薬工学は、バイオ医薬品・医療機器、  
化粧品・食品に関する製造技術及びプロセス、  
製品の品質評価・品質保証を学ぶ学問です。  
医薬工学科では、ライフサイエンスと  
データサイエンスの両方に精通し、  
バイオテクノロジーによるバイオ医薬品や、  
人の心を豊かにする化粧品・  
機能性食品を開発する  
人材を養成します。



公立大学法人 山陽小野田市立  
**山口東京理科大学**  
Sanyo-Onoda City University

# 医薬工学科の教育内容

学びの領域 01

医薬品・  
医療機器分野

医薬品・医療機器開発に関するライフサイエンスとデータサイエンスの両方の知識と研究心(研究能力)を身につけ、製造技術及びプロセス開発に関する問題発見・解決能力を身につけます。



学びの領域 02

化粧品・  
食品分野

化粧品・食品に関するライフサイエンスとデータサイエンスの両方の知識と研究心(研究能力)を身につけ、製造品の品質評価・品質保証に関する問題発見・解決能力を身につけます。

品質保証

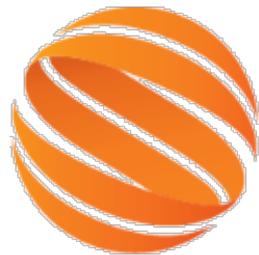


公立大学法人 山陽小野田市立  
**山口東京理科大学**  
Sanyo-Onoda City University

# 内容

1. 代替法研究の国際動向
2. JaCVAMの組織と役割
3. JaCVAMとNIHの成果
4. 今後の展望

# 代替法研究の国際動向



公立大学法人 山陽小野田市立  
**山口東京理科大学**  
Sanyo-Onoda City University

# 動物実験の3Rs

1. 実験動物を用いない試験法に置換える  
(**Replacement** 置換え)
2. 実験で使う動物数を減らす  
(**Reduction** 使用数の削減)
3. 実験動物のストレス、痛みを減らす  
(**Refinement** 苦痛の軽減)

# 3 Rsの変遷



## Interest in the 3RS

- *A largely unknown concept for the first 20 years*
- *1969: The UK organisation FRAME (Fund for Replacement of Medical Experiments) was established, and also worked (independently of UFAW/Russell & Burch) on alternatives*
- *1991: The HSUS (Humane Society of the United States) instigated a Russell and Burch Award*
- *1995: ECVAM, CAAT and FRAME organised a workshop which Russell and Burch both attended*
- *2000: The European Science Foundation 'strongly endorses the principles of the Three Rs'*



FRAME

*Rex Burch & William Russell in  
Sheringham, UK, in 1995*

Norecopa: PREPARE for better Science

[journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/026119299502300614](https://journals.sagepub.com/doi/abs/10.1177/026119299502300614)

# 代替法の定義

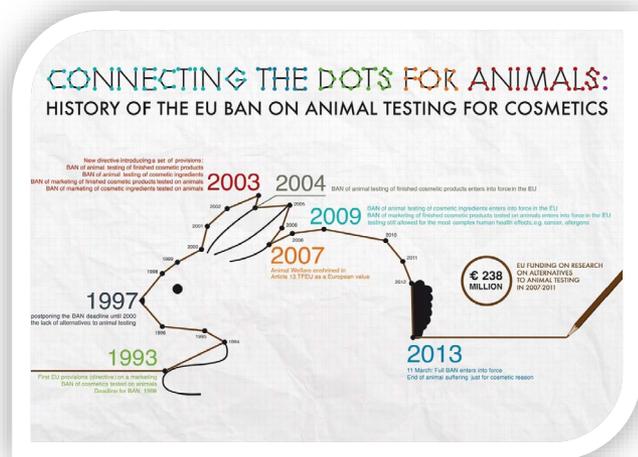
**Alternative test:** A test that: **reduces** the numbers of animals required; **refines** procedures to lessen or eliminate pain or distress to animals, or enhance animal well-being; or **replaces** animals with non-animal systems or with non-sentient species (OECD GD34)

**Replace :** The optimal solution is to **replace the test method requiring animal experiments with one or several in vitro methods** (OECD, GIVIMP)

一般的に用いられる用語

Alternative test (non-animal) ,*in vitro* test

# EUにおける化粧品に対する動物実験規制



[https://single-market-economy.ec.europa.eu/document/download/dfa89475-85b2-45e2-961b-7fb07c0fe7b2\\_en?filename=rabbit-05.pdf](https://single-market-economy.ec.europa.eu/document/download/dfa89475-85b2-45e2-961b-7fb07c0fe7b2_en?filename=rabbit-05.pdf)

代替法の有無によらず、全ての動物実験を禁止

**BBC NEWS EUROPE**

Home UK Africa Asia Europe Latin America Mid-East US & Canada Business Health Sci/Environ

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 search for alternatives to animal testing goes on

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 Animal Experiments (ECEAE)** said they had spent more than 20 years campaigning on the issue and had enlisted celebrities including Sir Paul McCartney, Morrissey and Sienna Miller to their cause. They congratulated the EU Commission for putting the ban into effect.

UK retains strict animal test law

EU tightens rules on lab animals

But BUAV says many countries in the world still test on animals for cosmetics and the group is now pressing for a global ban.

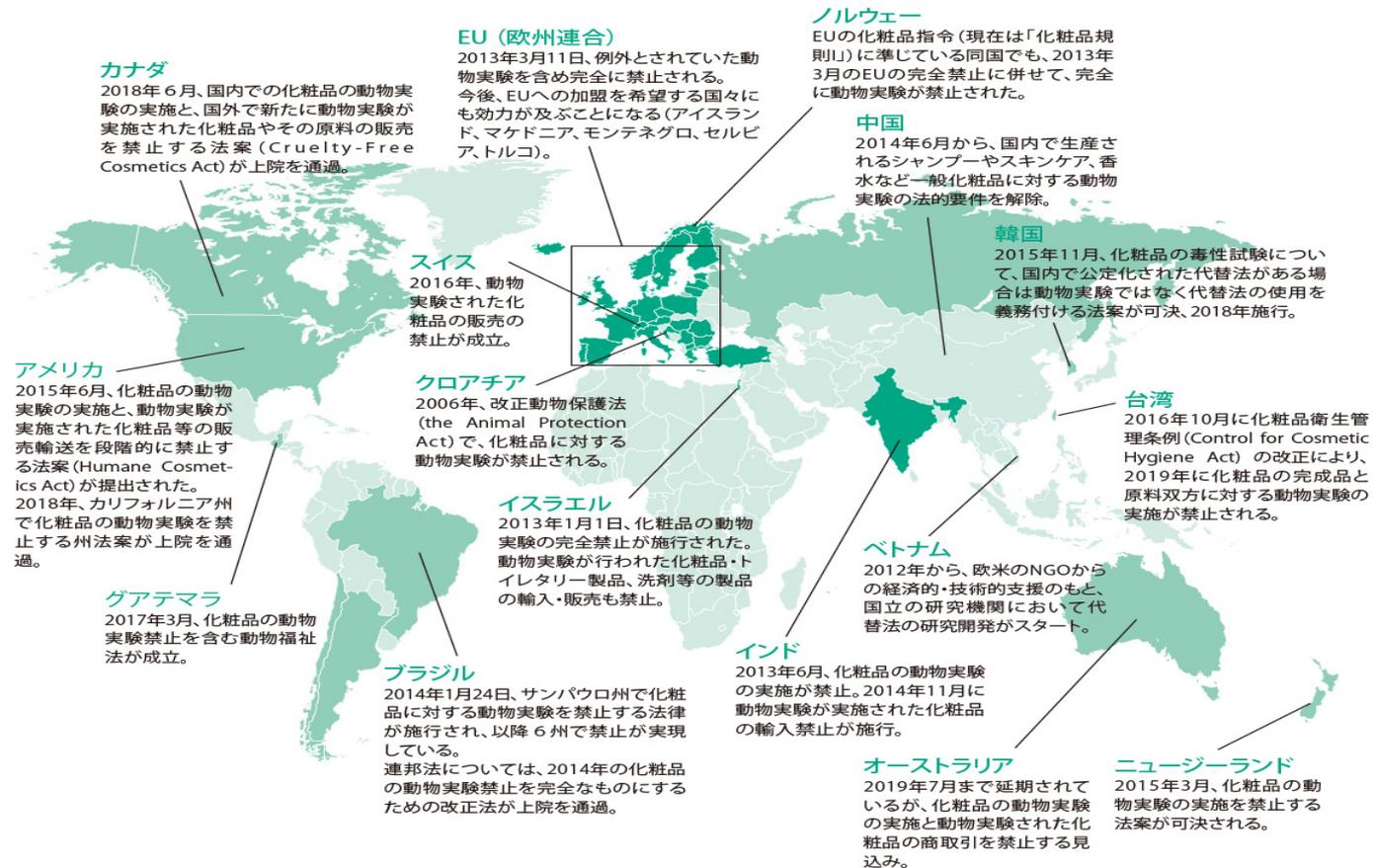
Mice and rats are used for more than half of all lab animal tests carried out in the EU.

Despite the EU's 2009 ban, cosmetics firms were allowed to continue testing on animals for the most complex human health effects, such as toxicity which might lead to cancer. However, those tests now come under the ban too.

The **EU Commission** says it is working with industry to develop more alternatives to animal testing, and that it allocated 238m euros (£208m; \$310m) in 2007-2011 for such research.

平林容子 安全性生物試験研究センター長より借用

# 法的禁止へ加速する諸外国



<https://www.java-animal.org/animal-testing/cosmetics/>

# 世界的に通用する代替法とは何か？



- ヒト健康・環境安全性評価に関する共通のprotocols



- データの相互受理 (MAD)
- 各国の法律毎の運用



- 法律に準拠した申請
- GLP下での安全性評価

# OECD

Organisation for Economic Co-operation and Development : 経済協力開発機構

- 現在の加盟国：38カ国  
EU加盟国22カ国、その他16カ国（日米英、他）

— **OECD** の役割

OECDのアプローチについて詳しく見る



情報提供と助言

関係構築と影響

基準の設定と政策支援

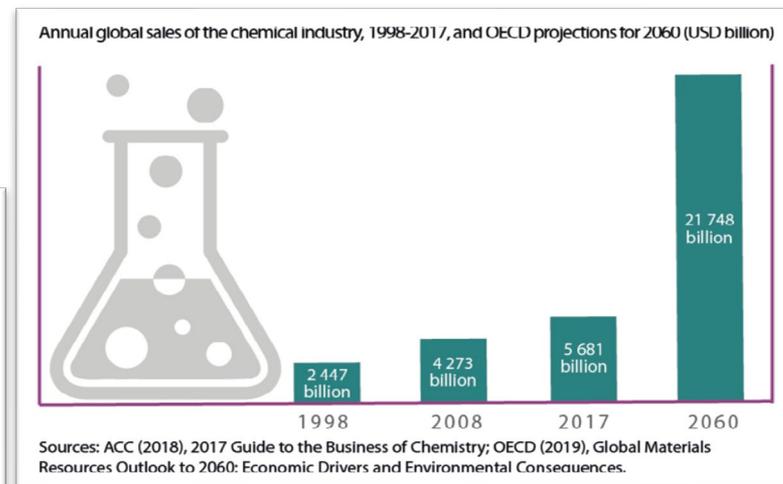
OECDは、加盟国、パートナー諸国に国際基準の策定を奨励し、誰もが同じルールに従って行動し、協力して共通の目標を達成できるよう支援しています。

<https://www.oecd.org/ja/about/how-we-work/>

# OECDにおける化学物質安全への取組



<https://www.oecd.org/env/ehs/work-on-chemical-safety-and-biosafety-2021-24.pdf>



平林容子 安全性生物試験研究センター長より借用

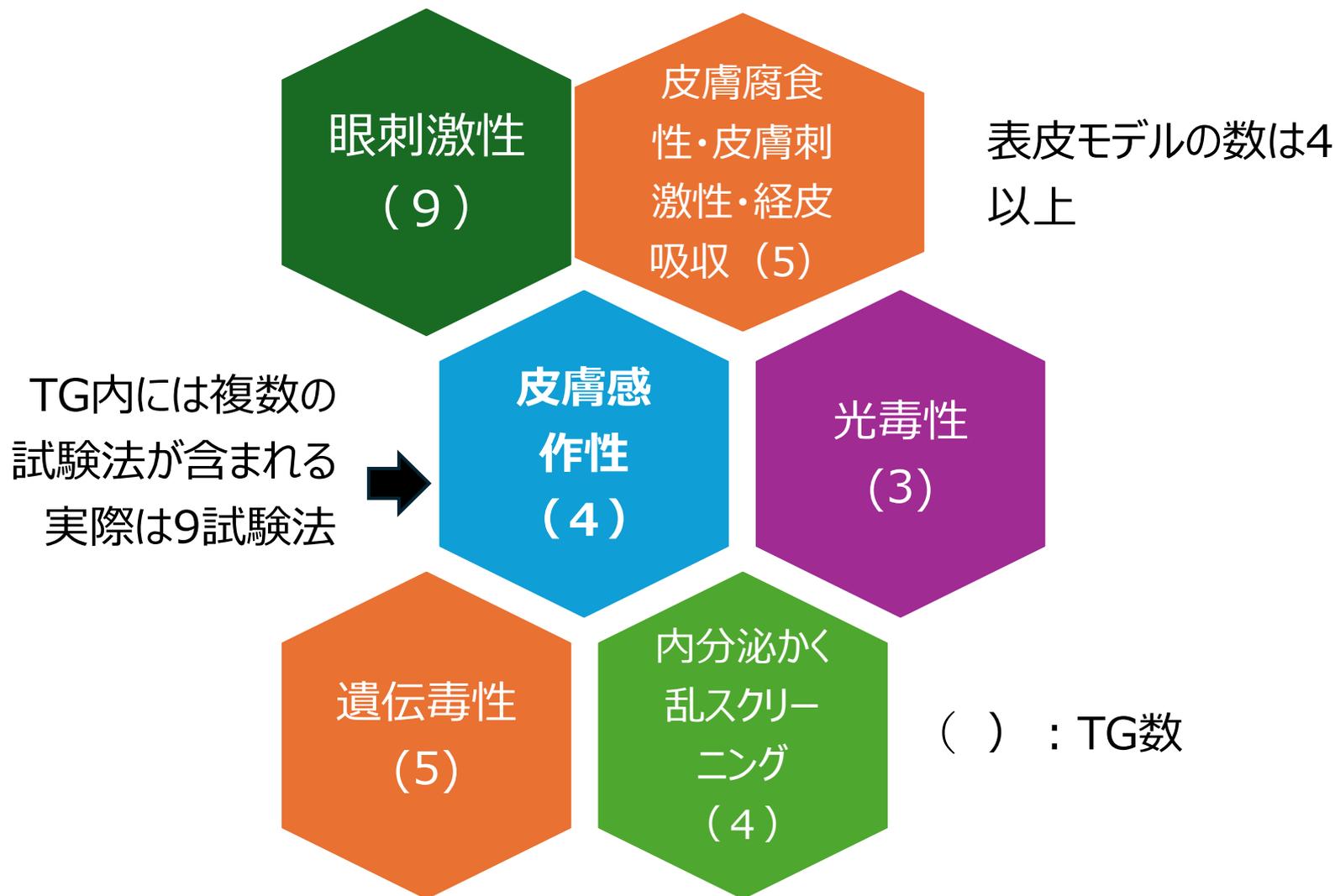
# OECDにおける初の動物試験代替法

- 摘出皮膚を用いた皮膚腐食性試験  
(TG430, 2004)
- ヒト表皮の再構築モデルを用いた  
皮膚腐食試験法  
(TG431, 2004)
  - ✓TG404 (動物試験) の置換え
- 培養細胞を用いた3T3NRU光毒性  
試験 (TG432, 2004)
- In vitro経皮吸収試験  
(TG428, 2004)



<https://www.oecd.org/chemicalsafety/aboutchemicalsafetyandbiosafety.htm>

# 動物実験代替法(代替法)が関係した OECDのヒト健康に関するTG (2024年現在)



# OECD テストガイドライン ヒト健康に関する TGと動物実験を用いない試験法の割合（2024）

分類	TG数	<i>in vitro, in chemico</i> のTG数
腐食性	3	3
皮膚刺激性	2	1
光毒性	3	3
眼刺激性	10	9
皮膚感作性	8	4
経皮吸収	2	1
遺伝毒性	13	5
内分泌かく乱	6	4
その他	29	1
合計	76	31

40%越え達成！

## GHSのシンボルと名称

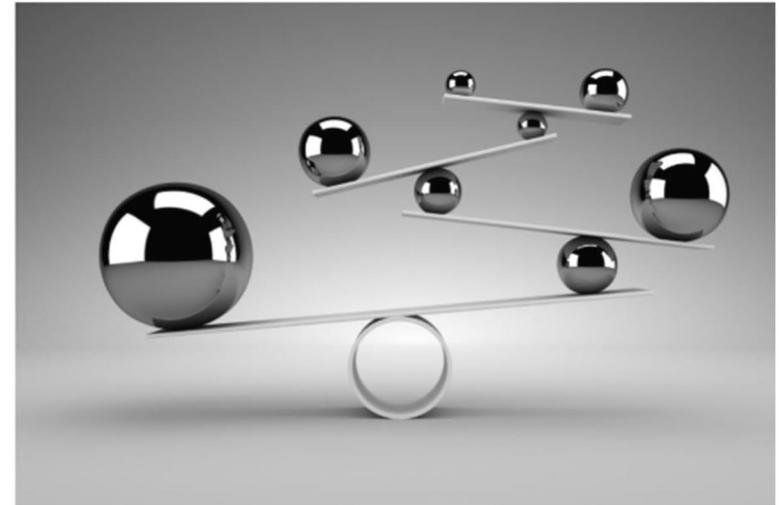
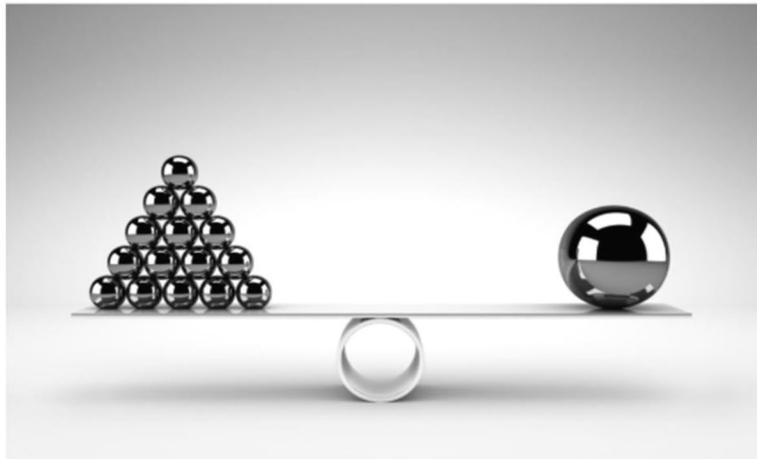
炎	円上の炎	爆弾の爆発
		
腐食性	ガスボンベ	どくろ
		
感嘆符	環境	健康有害性
		

OECDのTGはGHSのラベリングに貢献

# Concept and validation of Defined Approaches and IATA

## Defined Approach

- Fixed information sources
- Fixed Data Interpretation Procedure
- ↳ **Can be validated and falls under MAD**



## Integrated Approach to Testing and Assessment

- Flexible approach
- Weight of evidence/expert judgement
- Need for a confidence building framework

João Barroso (Joint Research Centre, EURL ECVAM)



Section 4  
Health effects

## Guideline No. 497

### Guideline on Defined Approaches for Skin Sensitisation



- 1 初めて*in vitro*試験法の結果を組み合わせて評価する手法が公定化された。
- 2 初めて*in silico*の利用が組み合わせ評価に利用された。
- 3 初めてヒトの毒性が評価された。

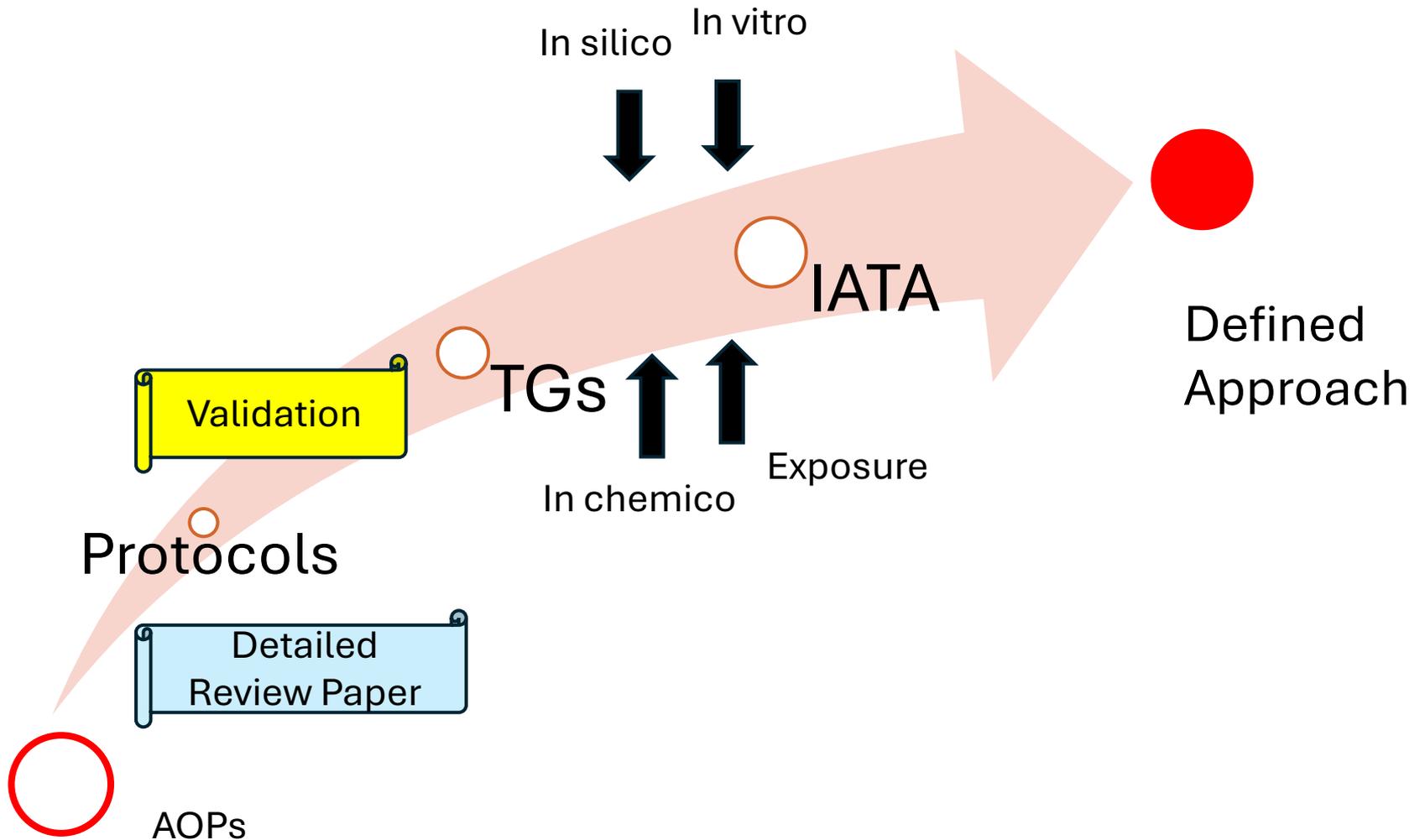


Section 4  
Health effects

**Test Guideline No. 467**  
Defined Approaches for Serious Eye  
Damage and Eye Irritation

- 1 *in vitro*や*in silico*試験法の結果を組み合わせることで弱い眼刺激性を評価する手法が公定化された。
- 2 初めて*in silico*のみの利用で眼刺激性がないことを評価できるようになった。

# OECDの代替法を用いたリスク評価戦略



# 国際規制組織における代替法の認知



「医薬品の臨床試験及び製造販売承認申請のための非臨床安全性試験の実施  
についてのガイダンス」について

## 大野泰雄先生の功績

### 1. 背景

優れた医薬品の国際的な研究開発の促進及び患者への迅速な提供を図るため、承認審査資料の国際的なハーモナイゼーション推進の必要性が指摘されている。このような要請に応えるため ICH が組織され、その合意に基づき、本ガイドラインが改正された。

### 2. 改正の要点

動物実験の 3 R（使用動物数の削減／苦痛の軽減／代替法の利用）の原則に従って、各非臨床試験に関する見直しを行うとともに、新たに、一般毒性試験のための高用量の選択、早期探索的臨床試験のための非臨床試験、免疫毒性、光安全性試験、薬物乱用に関する非臨床試験及び配合剤のための非臨床試験等の考え方についての指針を示した。



INTERNATIONAL COUNCIL FOR HARMONISATION OF TECHNICAL  
REQUIREMENTS FOR PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE

**ICH HARMONISED GUIDELINE**

**DETECTION OF REPRODUCTIVE AND DEVELOPMENTAL  
TOXICITY FOR HUMAN PHARMACEUTICALS**

**S5(R3)**

<b>4.2.</b>	<b>STRATEGIES TO ADDRESS EMBRYO-FETAL DEVELOPMENT (EFD)</b>	<b>12</b>
4.2.1.	CONSIDERATIONS FOR BIOPHARMACEUTICALS	12
4.2.2.	ALTERNATIVE APPROACHES FOR ADDRESSING EFD RISK	13
4.2.2.1.	Use of Alternative Assays	13

## ICH S5（医薬品毒性試験法ガイドライン 生殖発生毒性試験）の試験戦略に、代替法の記述が追加

### 4.2.2 EFDリスクに対処するための代替アプローチ

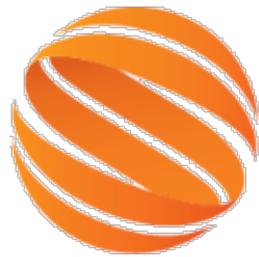
#### 4.2.2.1 代替法の利用

胚・胎児発生（EFD）に対する潜在的有害性を検出するために、*in vitro*、*ex vivo*や非哺乳類を用いた*in vivo*などのいくつかの代替法が開発されている。これらの代替法はEFDに対する有害作用に関する創薬スクリーニングに使用され、毒性作用機序の理解を深める一助となっており、（特にヒト特異的な標的について）非臨床データをヒトでのリスクに外挿する上で役立つ場合もある。これらの目的で代替法を継続的に利用することが推奨される。

# ここまでのまとめ

- 遺伝毒性や局所毒性を中心としたOECDのTGが2020年までに整備された。化粧品企業に必要な局所毒性のTGが整備された。
- すべてのTGはGHS分類を目指しているが、単独のTGでは評価できないことがある。これにより、Defined ApproachのTGができた。
- 全身毒性試験の代替法がほとんどない。
- OECD以外の国際機関に代替法の輪が広がりつつある。

# JaCVAMの組織と役割

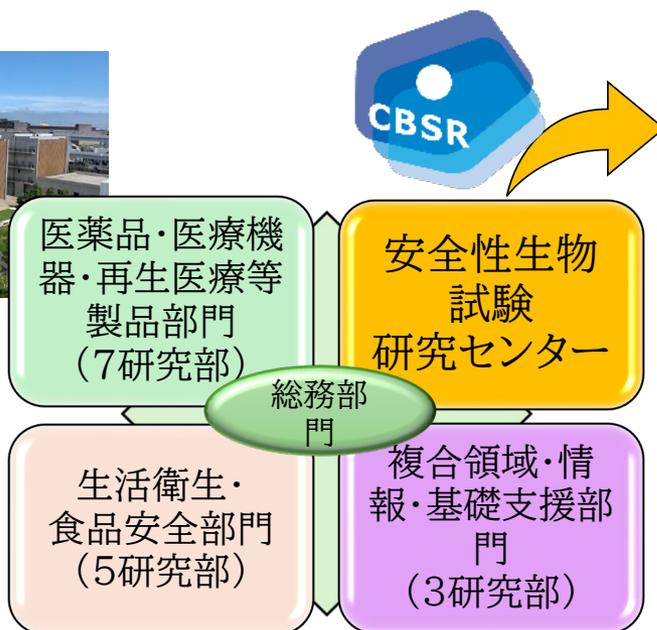


公立大学法人 山陽小野田市立  
**山口東京理科大学**  
Sanyo-Onoda City University

# 国立医薬品食品衛生研究所



安心できる毎日をおくるために…私たちは研究をしています。



事務局：足利太可雄  
大野彰子  
吉川環



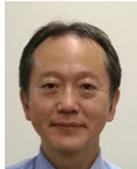
平林容子 安全性生物試験研究センター長より借用



National Institute of Health Sciences



Center for Biological Safety and Research



# JaCVAM

日本動物実験代替法評価センター

2005年に、国際状況を踏まえて、動物試験代替法の行政利用の促進を目的として設立



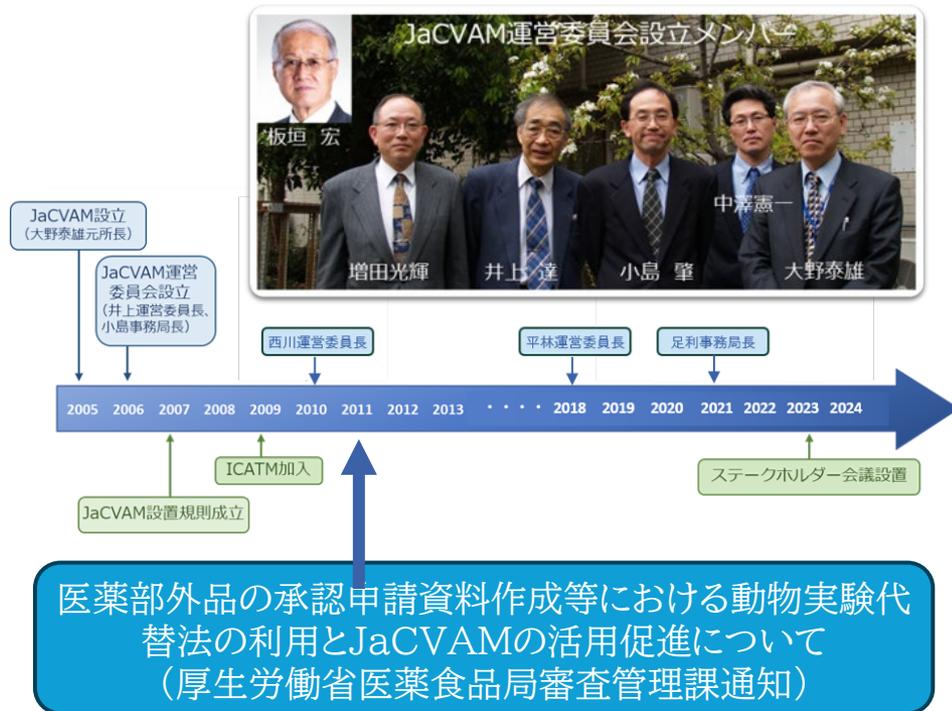
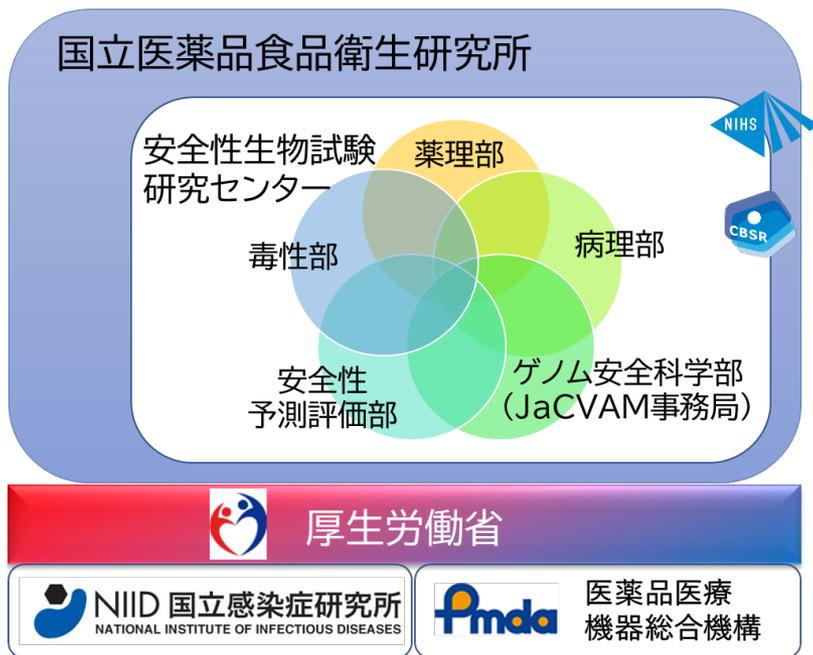
JRC  
EURL ECVAM



ICATM: International Cooperation on Alternative Test Methods

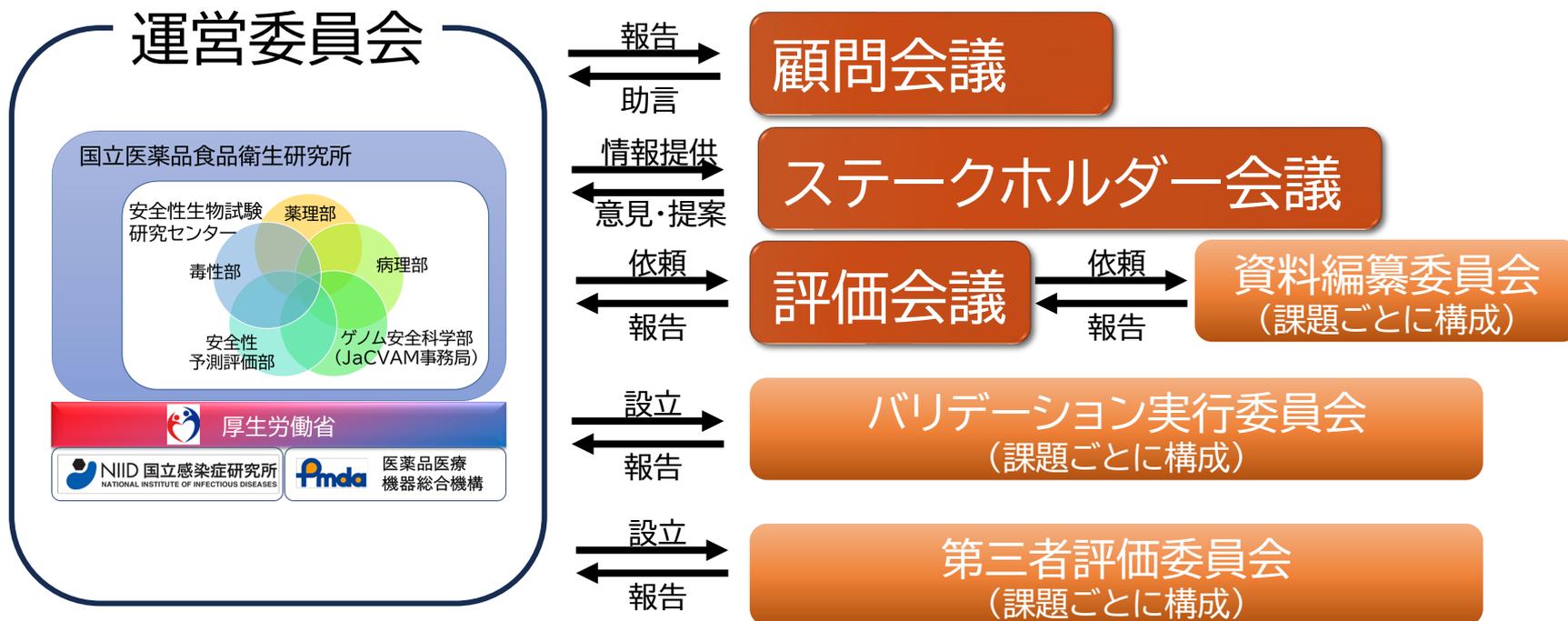
平林容子 安全性生物試験研究センター長より借用

# JaCVAMの運営組織



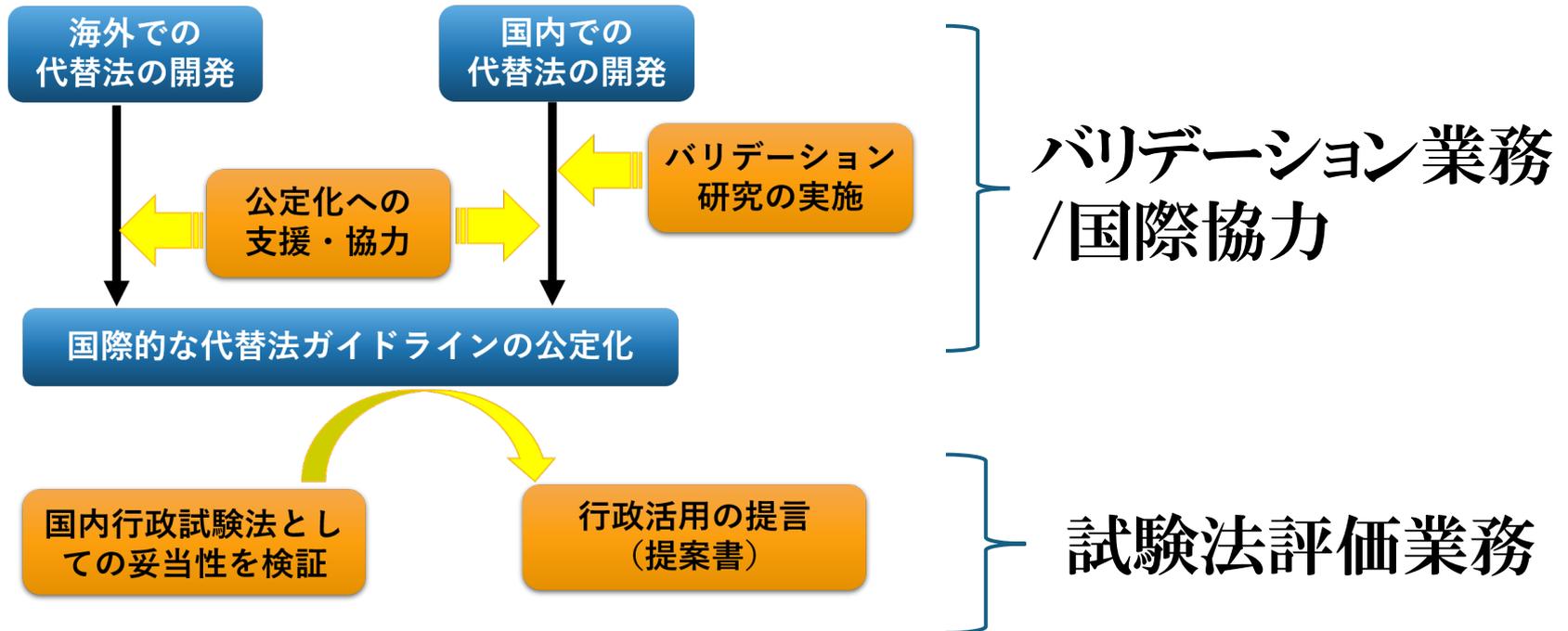
平林容子 安全性生物試験研究センター長より借用

# JaCVAMの会議体制

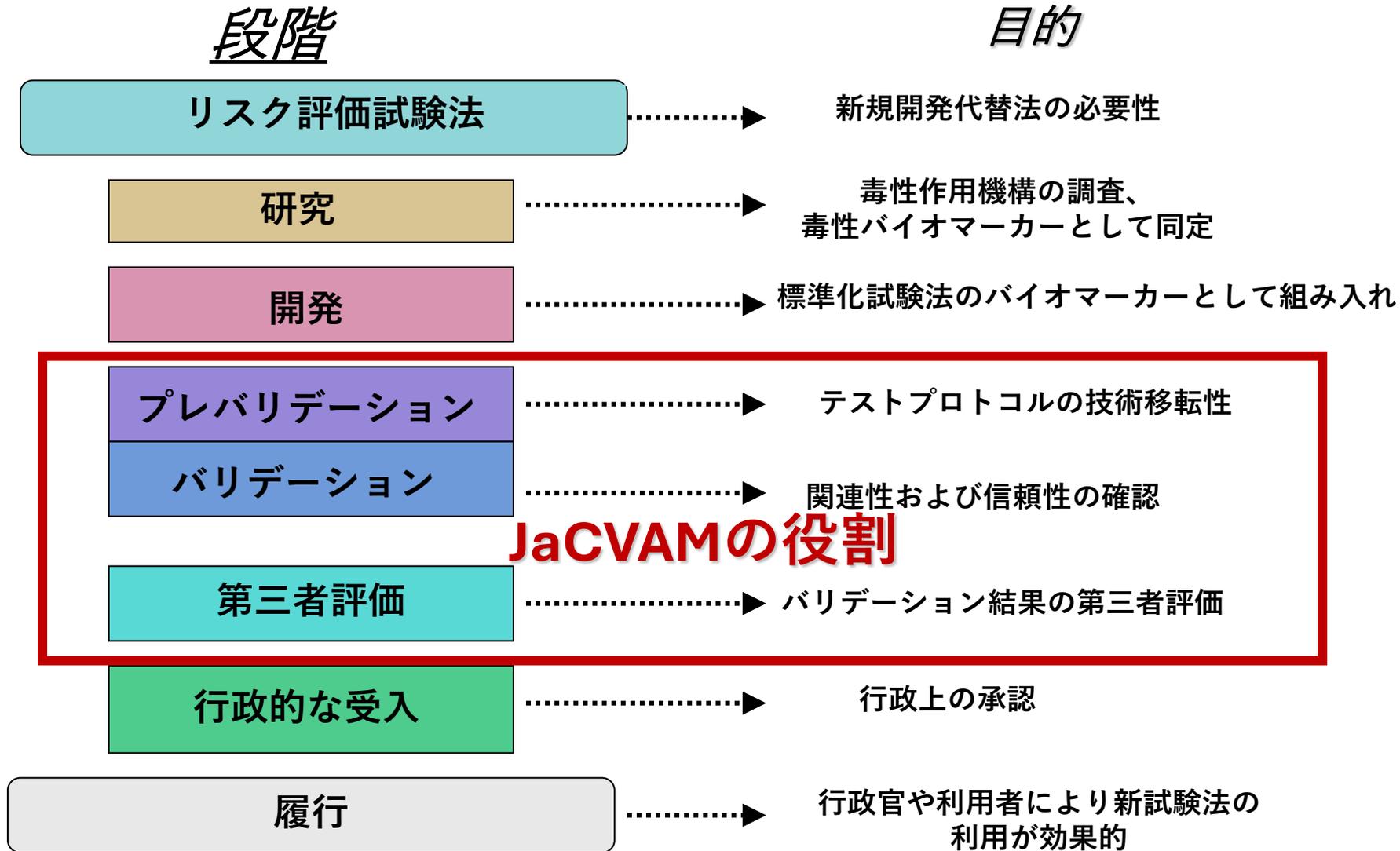


平林容子 安全性生物試験研究センター長より借用

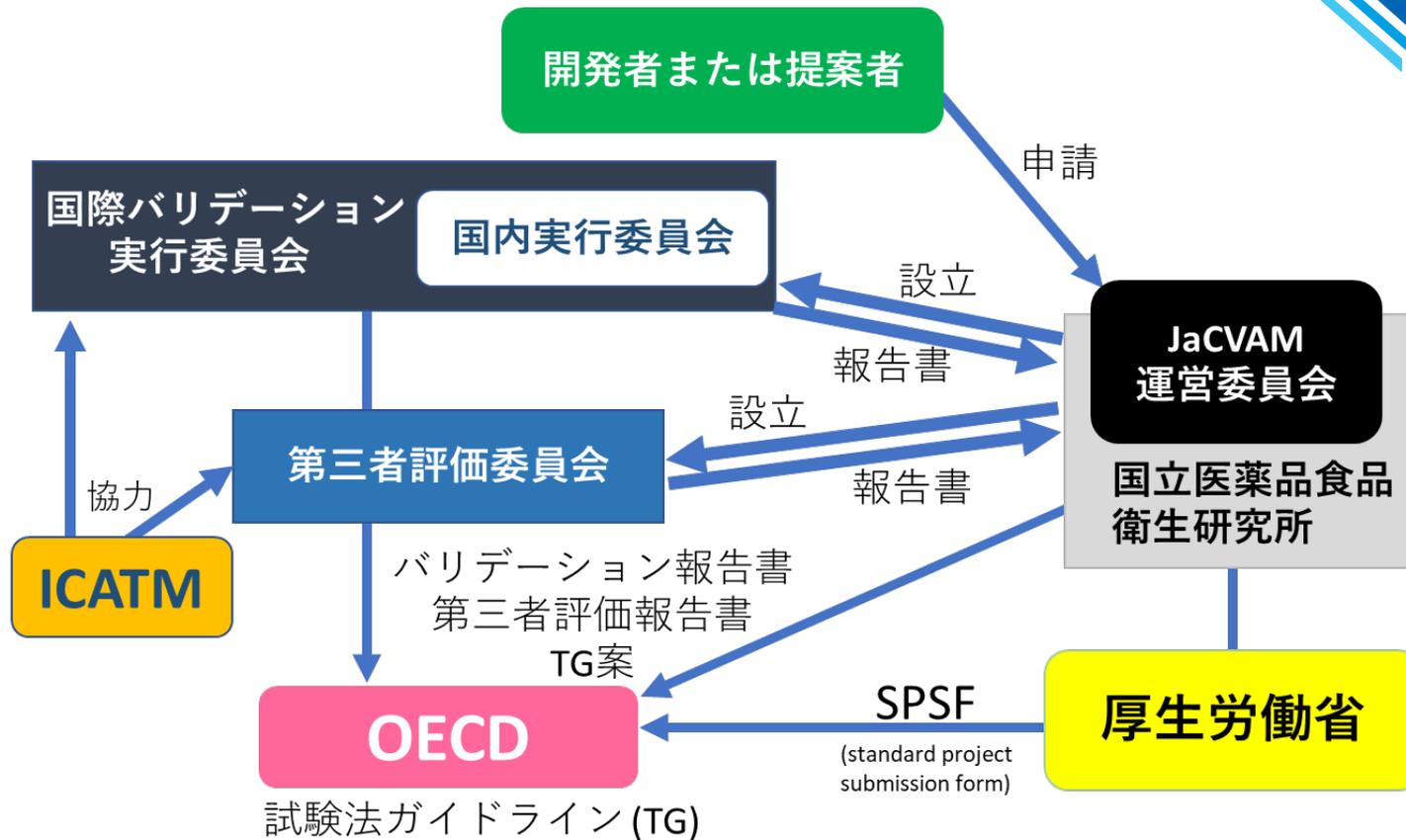
# JaCVAMの活動の流れ



# 試験法公定化の過程

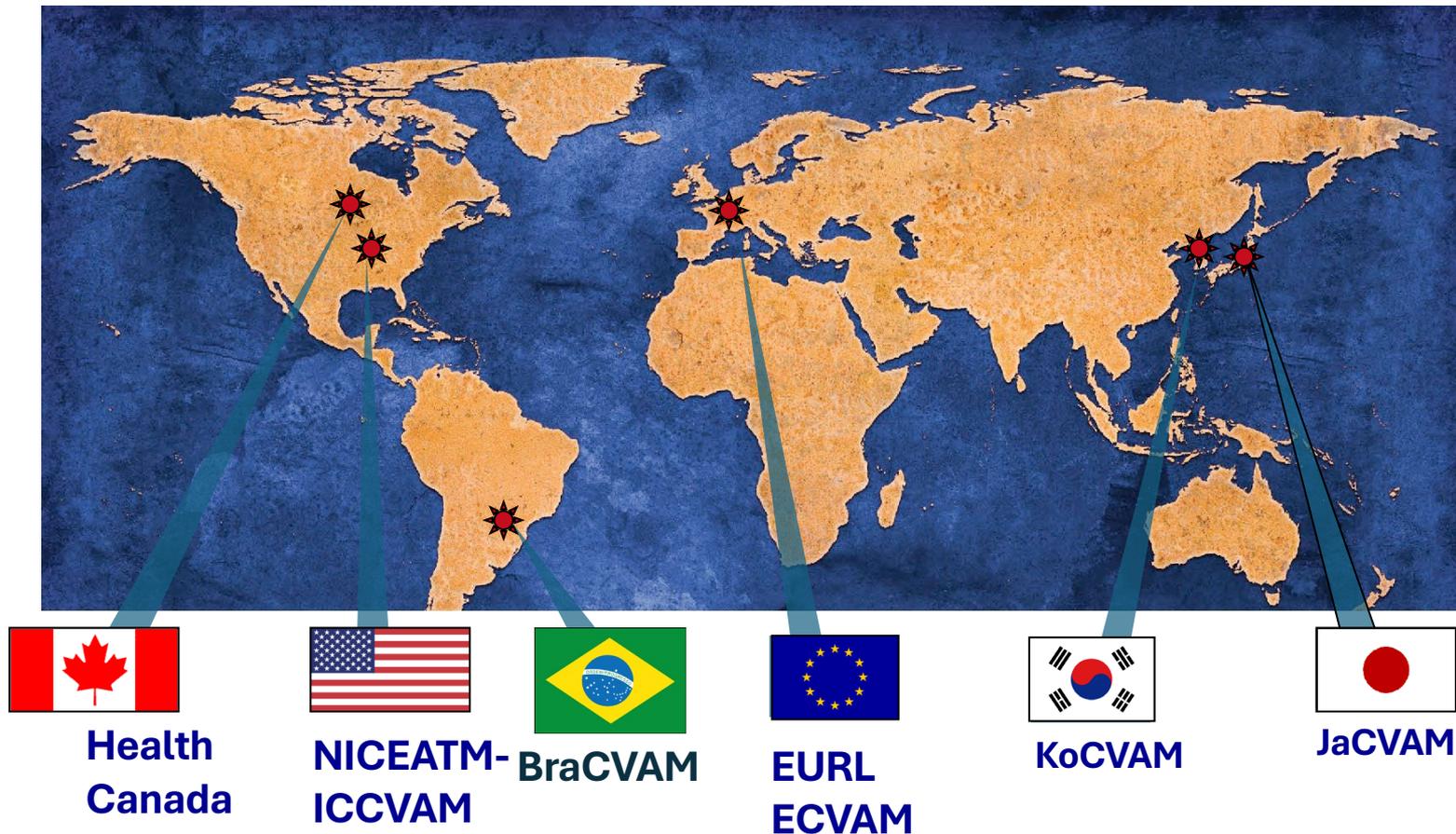


# JaCVAMのバリデーション業務/国際協力



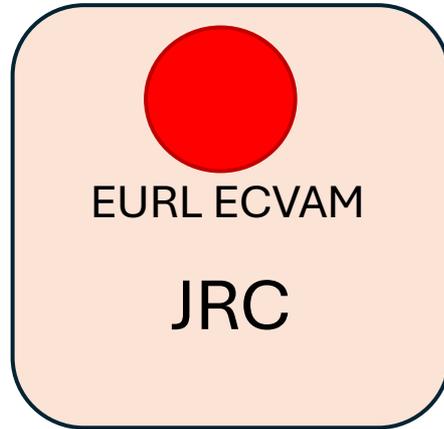
# ICATM

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

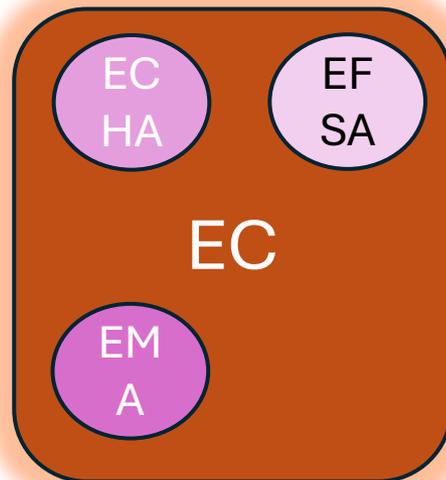


# 日米欧の組織の違い

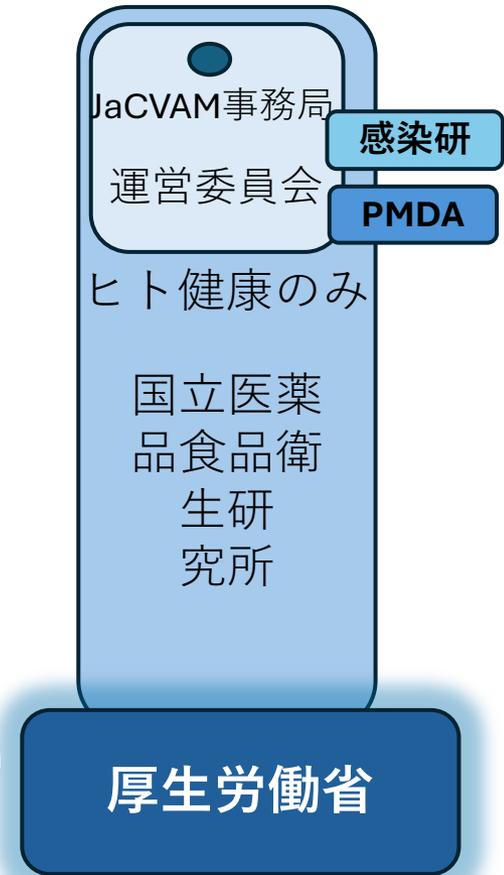
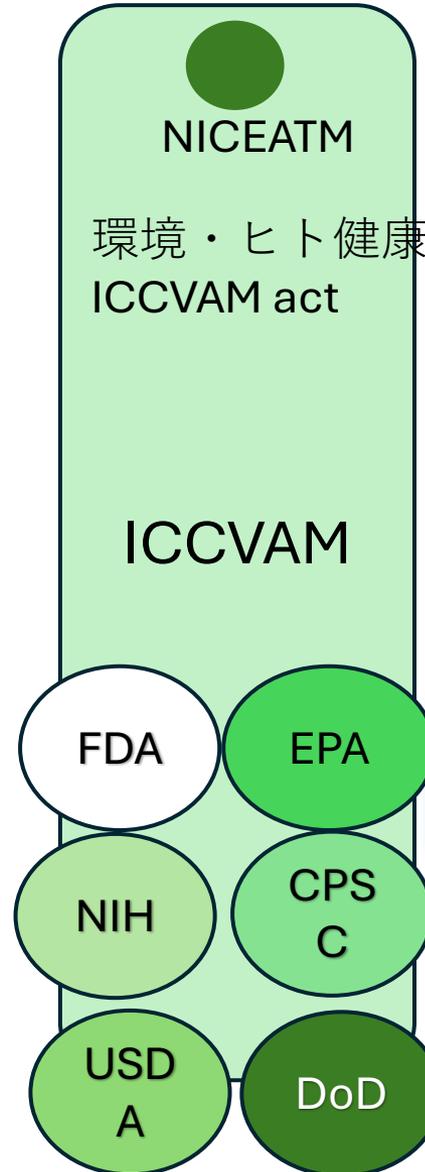
試験法評価  
組織



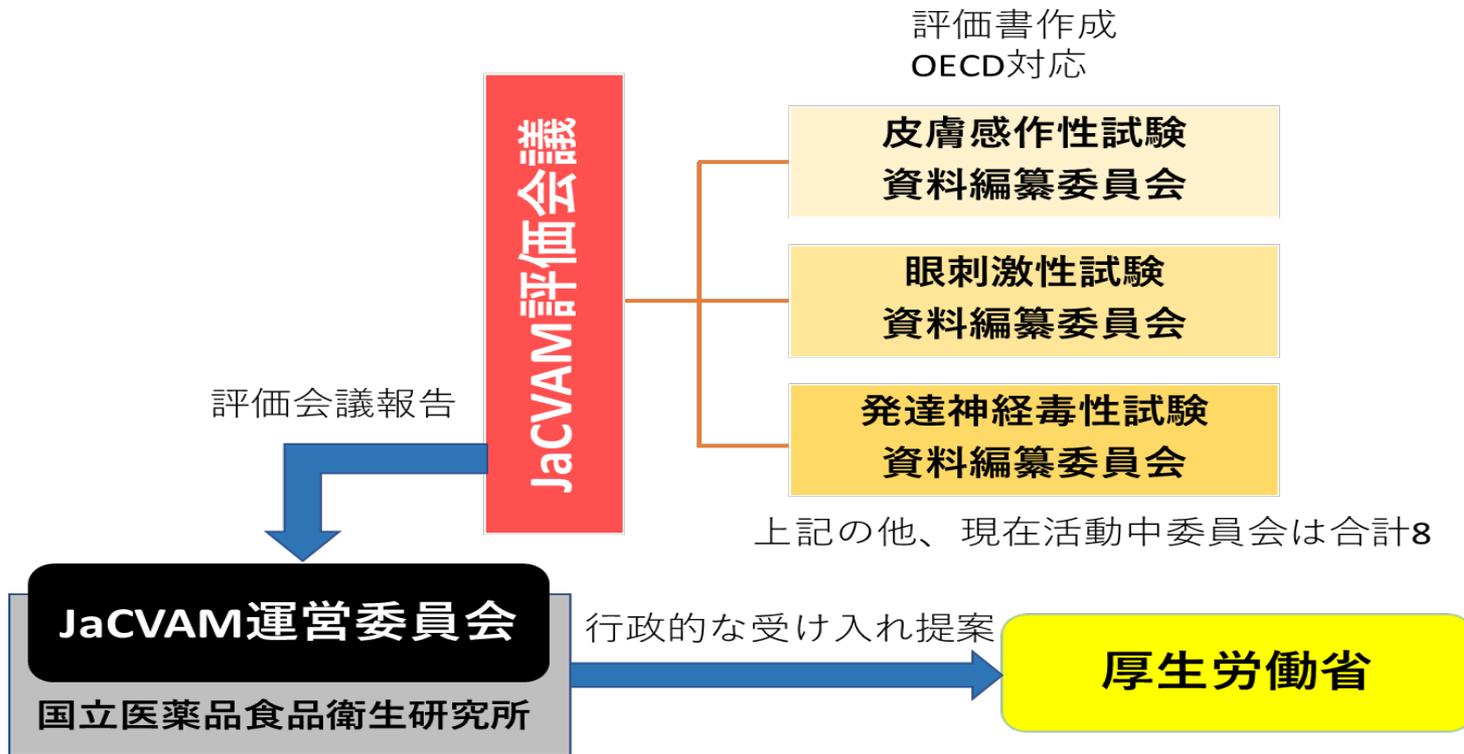
環境・ヒト健康  
EU regulation



試験法の  
受入機関



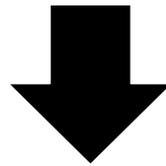
# JaCVAMの試験法評価業務



# 国立医薬品食品衛生研究所の役割

## 試験法の適格性（信頼性と妥当性）を評価

業務関連物質の安全性に係る試験法の有用性とその限界及び行政試験法としての妥当性についての評価と、それに必要なバリデーションを実施するとともに、関連分野における国内及び国際協力並びに国際対応

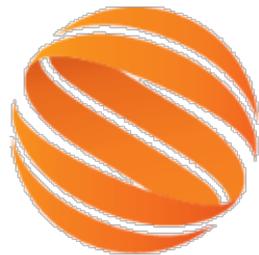


試験法の行政的な受け入れ

TGを目指すなら、安全性生物試験研究センターにご相談ください



# JaCVAMとNIHSの成果



公立大学法人 山陽小野田市立  
**山口東京理科大学**  
Sanyo-Onoda City University

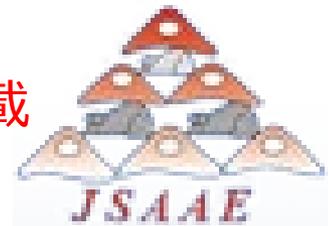
# 厚生労働省に受入れを提案した試験法 (直近5年間)

主にOECD TGを基に40以上の試験法を行政に提案

試験名	提案日
皮膚感作性試験代替法 Interleukin-8 Reporter Gene Assay (IL-8 Luc assay)	2020年12月
Bhas 42細胞形質転換試験法 (Bhas 42 CTA)	2020年12月
エストロゲン受容体 (ER) 結合親和性化学物質の検出のための、ヒト組み換えエストロゲン受容体 (hrER) in vitro 試験法に関する性能準拠試験法ガイドライン (TG493)	2020年12月
皮膚腐食性試験代替法 LabCyte EPI-MODEL24 SCT	2021年12月
眼刺激性試験代替法 Vitrigel-EIT法	2022年6月
眼刺激性試験代替法 SkinEthic® HCE TTT法	2024年2月
皮膚感作性試験代替法 ADRA : アミノ酸誘導体結合性試験	2024年2月



AATEX-JaCVAMへの評価報告書の掲載

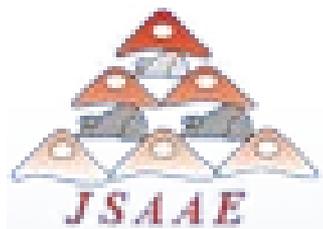


# JaCVAM評価報告書の行政活用

- 化粧品・医薬部外品ガイダンス
- 毒物劇物取締法の判定基準に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明示

# バリデーションに関する1990年代の日本の経緯

- 大野忠夫らによる眼刺激性試験の細胞毒性試験の共同研究が実施された。
- LLNA-DAやLLNA-BrdUのバリデーションなどが日本動物実験代替法学会バリデーション委員会で実施された。
- 大野泰雄らの厚生科学研究による眼刺激性試験代替法バリデーションが実施されたが、行政提案できる試験法はでなかった。



JaCVAMの設置

# JaCVAM担当中の試験

2007年4月時点

N o.	試験法	試験法の概要	欧米の動向	目標	現状	評価会議の開催	バリ委託先
1	腐食性試験	培養皮膚モデルを用いた方法	代替法を用いた腐食性評価が終了(OECDガイドライン430または431)	化学物質の腐食性評価に代替法を利用するための公定化	一次評価報告書作成	2007年2月15日	
2	光毒性試験	酵母膜破壊と赤血球の溶血試験	Balb3T3細胞を用いた細胞毒性試験がOECDにてガイドライン導入済み	日本の医薬部外品ガイドラインへの収載	一次評価報告書案作成後、ワーキンググループにて評価	2007年秋	
3	LLNA-DA	マウスリンパ節中のATP量の変化を指標とする方法	OECDガイドライン導入済み	OECDガイドライン現行法の改変	バリデーション2007年2月終了、代替法学会のバリデーション委員会報告を待って、5-6月にはワーキンググループ会議を開催、その後、一次評価報告書案作成	2008年1月	日本動物実験代替法学会
4	LLNA-BrdU	マウスリンパ節中のBrdUの取り込みを指標とする方法	OECDガイドライン導入済み	OECDガイドライン現行法の改変	バリデーション2007年1月終了、ただし、追加バリデーションの必要性が生じたため、今後の予定は未定。	2009年	日本動物実験代替法学会
5	皮膚刺激性試験	培養皮膚モデルを用いた方法	COLIPAを中心にバリデーション実施中	日本の医薬部外品ガイドラインへの収載	日本におけるバリデーション終了。COLIPA法に合わせた追加バリデーションおよび評価が必要。4月よりワーキンググループ立ち上げを希望。	2009年	日本動物実験代替法学会

# JaCVAMが関与したバリデーションの委員長と事務局

バリデーション名	委員長	事務局	開発者
LLNA-DA	大森崇 (東京理科大学)	JSAAEバリデーション委員会	ダイセル
LLNA-BrdU	大森崇 (東京理科大学)	JSAAEバリデーション委員会	CERI
コメントアッセイ	宇野芳文 (田辺三菱製薬)	小島肇	Ray Tice (NIEHS)、JEMS MMS研究会
ER-STTA	小野敦 (NIHS)	小島肇	CERI
Lumicell assay	Bill Stokes(NICEATM)	小島肇	California Devis Univ.
h-CLAT	Silvia Casati (ECVAM)	小島肇	資生堂、花王
BhasCTA	林真 (NIHS)	食薬	食薬センター
SIRC-CVS	簾内桃子 (NIHS)	小島肇	資生堂
LabCyte (TG439)	小島肇	小島肇	J-TEC
STE (TG491)	小島肇	花王	花王
LabCyte (TG492)	中原聡	小島肇	J-TEC
ROSアッセイ	中村和市 (塩野義)	小島肇	尾上誠実 (静岡県立大学)
LabCyte (TG431)	小島肇	小島肇	J-TEC
IL-8 Luc assay	田中憲穂 (食薬センター)	小島肇	相場節也 (東北大)
Vitrigel-EIT (TG494)	小島肇	小島肇 山口宏之	竹澤俊明 (農研機構)、関東化学
ADRA	小野敦 (岡山大学)	小島肇、笠原利男	富士フィルム
IL-2 Luc assay	田中憲穂 (食薬センター)	小島肇	相場節也 (東北大)
IL-1 Luc assay	小島肇	小島肇	相場節也 (東北大)
IL-2 Luc LTT	小島肇	小島肇	相場節也 (東北大)
EpiSensa	小島肇	花王	花王
MylcMAT	足利太可雄	伏原和久、小島肇	マイキャン
α-SENS	小野敦 (岡山大学)	赤堀有美	CERI
Epi2Sensa	Christian Pellevoisin (Consulting in NAMs)、小島肇	足利太可雄	MatTeck
LumiMAT	大屋賢司 (NIHS)	大野彰子	富士フィルム

# JaCVAMバリ デーション報告 書のpeer review panelの委員 長と事務局

バリデーション名	委員長	事務局	開発者
LLNA-DA	ICCVAM	NICEATM	ダイセル
LLNA-BrdU	ICCVAM	NICEATM	CERI
コメットアッセイ	OECD experts	OECD 事務局	Ray Tice (NIEHS)
ER-STTA	VMG-NA	OECD 事務局	CERI
Lumicell assay	VMG-NA	OECD 事務局	California Devis Univ.
h-CLAT	ESAC	ECVAM	資生堂、花王
BhasCTA	ESAC	ECVAM	食薬センター
SIRC-CVS	Sebastian Hofmann	小島 肇	資生堂
LabCyte (TG439)	OECD experts	OECD事務局	J-TEC
STE (TG491)	ICCVAM	NICEATM	花王
LabCyte (TG492)	Sebastian Hoffmann	小島 肇	J-TEC
ROSアッセイ	Horst Spielmann	小島 肇	尾上誠実 (静岡県立大学)
LabCyte (TG431)	Chantra Eskes	小島 肇	J-TEC
IL-8 Luc assay	David Basketter	小島 肇	相場節也、木村裕 (東北大)
Vitrigel-EIT (TG494)	Chantra Eskes	小島 肇	竹澤俊明 (農研機構)、関東化学
ADRA	David Basker	小島 肇	富士フィルム
IL-2 Luc assay	香山不二雄	足利太可雄	相場節也、木村裕 (東北大)
IL-2 Luc LTT	Barbara Caplan	足利太可雄	相場節也、木村裕 (東北大)
EpiSensA	G. Frank Gerberick	足利太可雄	花王
MylcMAT			マイキャン

# OECD Series on Testing and Assessments were associated with Japan since 2021

- Performance Standards for the Assessment of Proposed Similar or Modified In Vitro Epidermal Sensitisation Assay (EpiSensA) Test Methods  
OECD, 19 Sept 2024
- Report of the Validation of the IL-2 Luc Leukocyte Toxicity Test (IL-2 Luc LTT) Assay on In Vitro Immuno-Toxicity Testing  
OECD, 19 Sept 2024
- Peer Review Report of the Validation of the IL-2 Luc Leukocyte Toxicity Test (IL-2 Luc LTT) Assay on In Vitro Immunotoxicity  
OECD, 19 Sept 2024
- Second Edition, Performance Standards for the assessment of proposed similar or modified in vitro skin sensitisation DPRA and ADRA test methods  
OECD, 24 Jul 2023
- Performance Standards for the assessment of proposed similar or modified Vitrigel-Eye Irritancy method for Test Guideline 494  
OECD, 09 Mar 2021

これらの文書作成がJaCVAMの役割

## OECD Series on Testing and Assessments were associated with Japan since 2021

- Guidance Document on Integrated Approaches to Testing and Assessment (IATA) for Phototoxicity Testing  
OECD, 19 Sept 2024
- Detailed Review Paper on In Vitro Test Addressing Immunotoxicity With a Focus on Immunosuppression  
OECD, 19 Sept 2022
- Guidance document on the characterisation, validation and reporting of Physiologically Based Kinetic (PBK) models for regulatory purposes  
OECD, 03 Feb 2021

これらの文書作成はNIHS/CBSRの役割

# NIHS/CBSR/JaCVAMが成立・改定に寄与した日本発のOECD Test Guideline と OECD Guidance Document



1. Skin sensitization assay, LLNA : DA, TG 442A (2010)
2. Skin sensitization assay, LLNA : BrdU-ELISA , TG 442B (2010)
3. In vivo comet assay TG 489 (2014)
4. Skin irritation assay with LabCyte EPI-MODEL 24, TG 439 (2013)
5. Performance-based Test Guideline for stably transfected transactivation in vitro assays to detect estrogen receptor agonists and antagonist, Revised TG 455 (2015)
6. Bhas 42 cell transformation assay (2016) Guidance document
7. h-CLAT assay for skin sensitization testing, TG442E (2016)
8. IL-8 Luc assay for skin sensitization testing, TG442E (2017)
9. Eye irritation assay with LabCyte CORNEA-MODEL, TG492 (2018)
10. LabCyte EPI-MODEL for skin corrosivity testing, OECD TG431 (2019)
11. ROS assay for photosafety testing, TG495 (2019)
12. Short time exposure (STE) assay for eye irritation testing, TG491 (2020)
13. Stable transfected transcriptional activation (STTA) assay for androgen disruptor screening (AR-Ecoscreen), TG458 (2020)
14. Vitrigel-EIT for eye irritation testing, TG494 (2021)
15. ADRA for skin sensitisation testing, TG442C (2021)

16. IL-2 Luc assay for immunotoxicity testing, TG444A  
(2023.7.4)

17. EpiSensA for skin sensitization testing, TG442D (2024. 6.  
27)

18. IL-2 Luc LTT for immunotoxicity testing (2025予定)

# NIHS/CBSR/JaCVAMが大規模改定に寄与したOECD Test Guideline

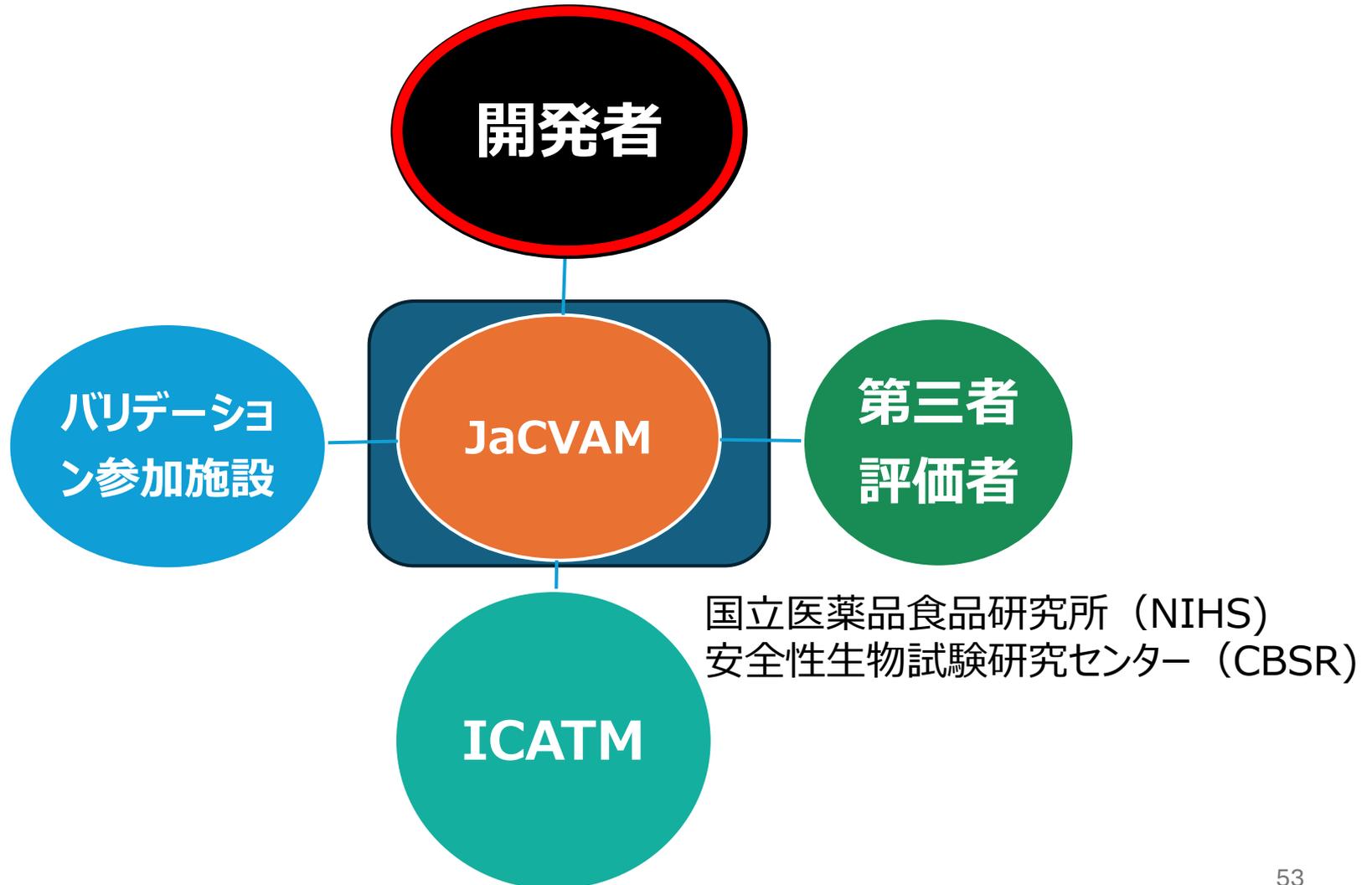


1. Short time exposure (STE) assay for eye irritation testing, TG491 (2020)
2. Vitrigel-EIT for eye irritation testing, TG494 (2023)
3. ADRA for skin sensitisation testing, TG442C (2023)
4. DPRA for skin sensitisation testing, TG442C (2024)
5. IL-8 Luc assay for skin sensitization testing, TG442E (2024)

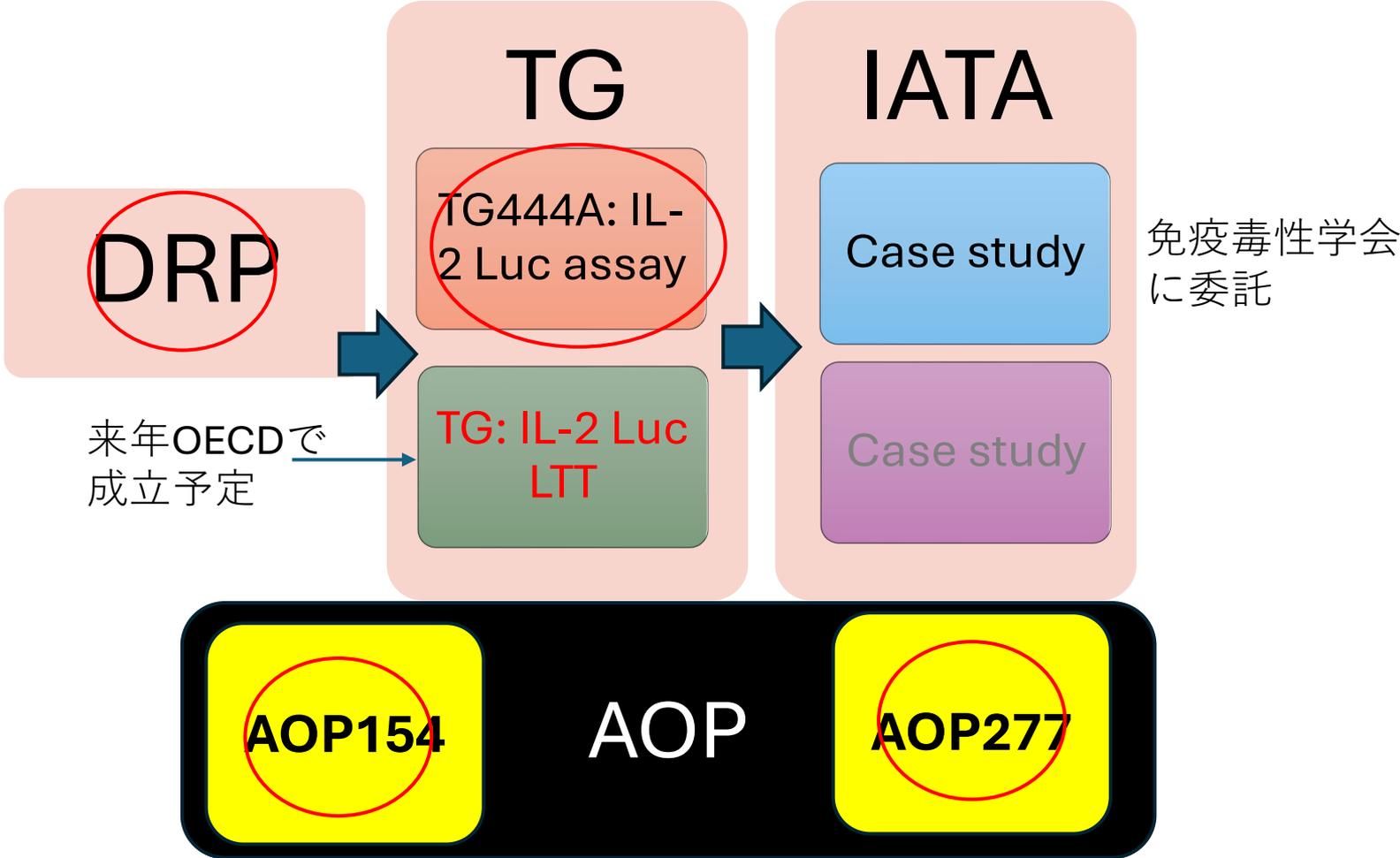
分類	試験名	バリデーション 研究	専門家による 第三者評価	プロトコル	テスト ガイドライン	JaCVAMからの 行政への提案
光毒性試験	01 3T3-NRU法	Cosmetic Europe/ EURL ECVAM 			OECD TG No. 432 	
	02 ROSアッセイ	JaCVAM 	JaCVAM 		ICH S10  GD  OECD TG No. 495 	2016年1月 
	03 酵母・赤血球試験	JSAAE 	JaCVAM 			
	04 ヒト表皮試験	BfR 	EURL ECVAM 		OECD TG No. 498 	

分類	 終了  進行中  保留または中断  未着手				JaCVAMからの 行政への提案	
04	01					2014年1月

# これらの成果への貢献者



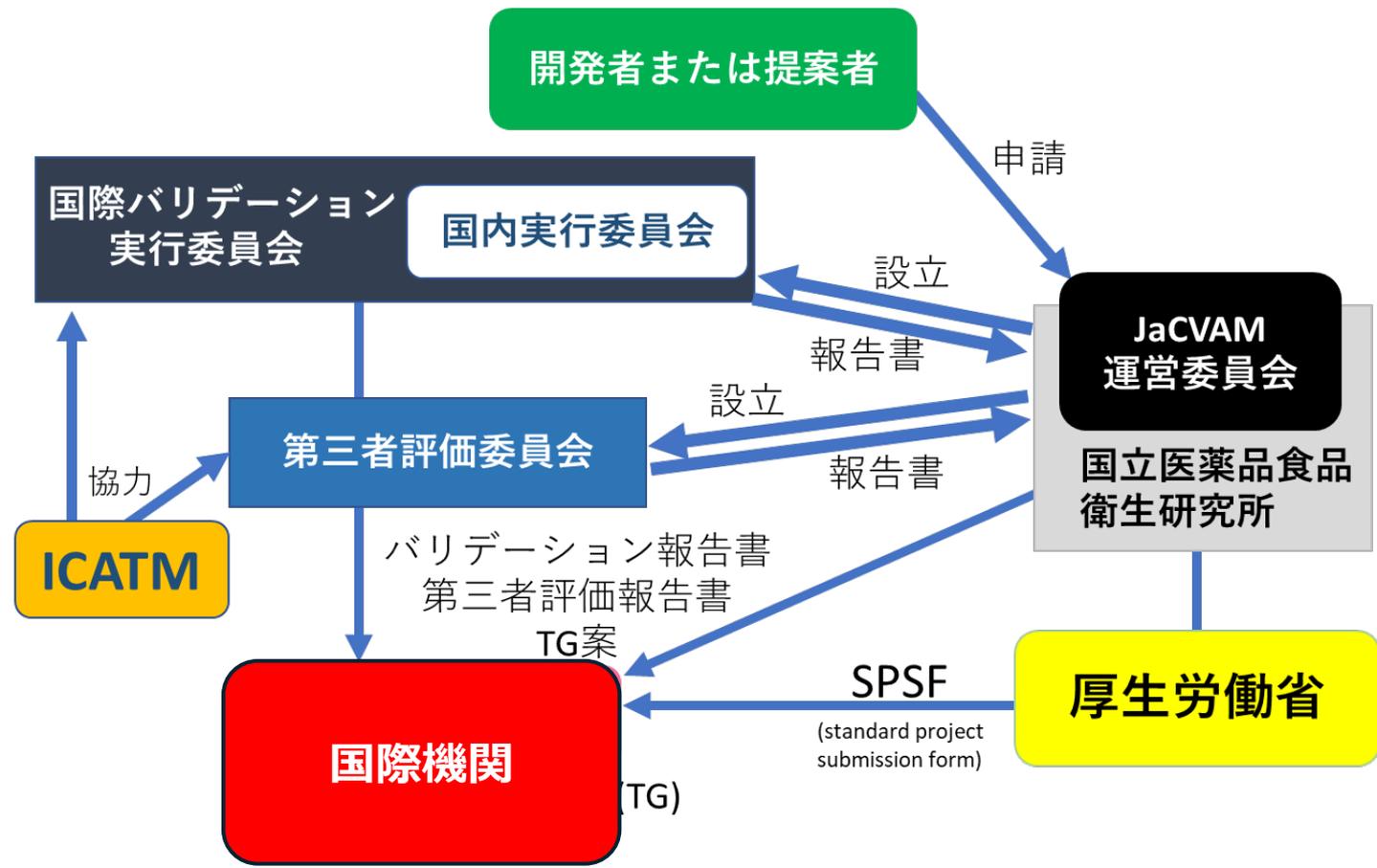
# In vitro免疫毒性試験の戦略



AOP154 : Inhibition of Calcineurin Activity Leading to Impaired T-Cell Dependent Antibody Response

AOP 277: Impaired interleukin-1 receptor type I (IL-1R1) signaling leading to impaired T-cell dependent antibody response

# JaCVAMのバリデーション業務/ 国際協力



# JaCVAMで進行中のバリデーション研究

## 1. 皮膚感作性試験

α-SENS

Epi2sensA

開発者

CERI

MaTeK

委員長

小野敦（岡山大学）

Christian Pellevoisin

## 2. 皮膚刺激性試験

培養表皮モデル

J-TEC

加藤玲子（国立衛研）

## 3. 口腔粘膜試験

ライオン

小島肇（国立衛研）

## 4. 発熱性物質試験代替法 単球活性化試験

MyICMAT

マイキャン

足利太可雄（国立衛研）

LumiMAT

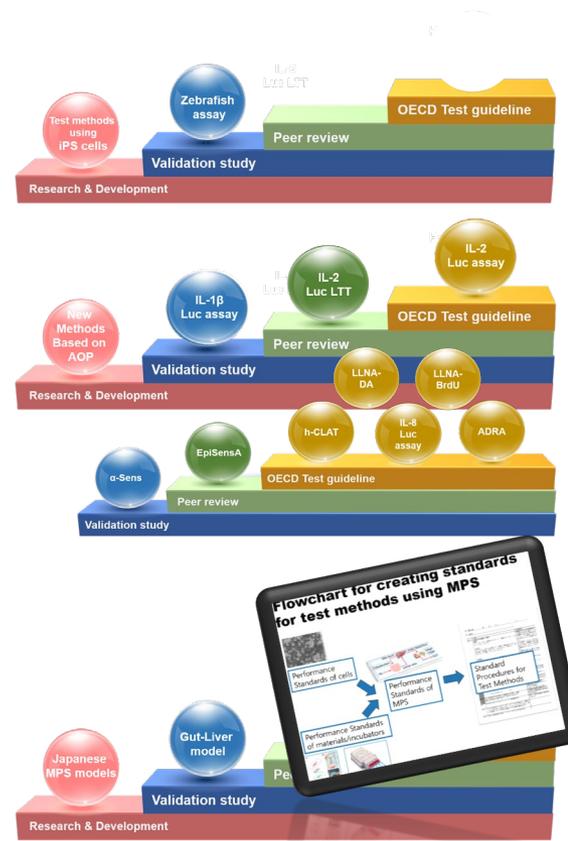
富士フィルム

大屋賢司（国立衛研）



# JaCVAMの成果を受けて NIHS/CBSRにおけるNAMsへの対応

1. 生殖発生毒性試験      **ICH S5(R4)、OECD**
  - ゼブラフィッシュ受精卵／ヒトiPS細胞
2. 免疫毒性／皮膚感作性試験      **OECD**
  - AOP／IATAの開発,  $\alpha$ -SENS, Epi2sensA
3. 皮膚刺激性試験      **ISO**
  - 培養表皮モデル
4. 口腔粘膜試験      **PMDA**
5. 発熱性物質試験      **薬局方**
6. 非遺伝毒性発がん      **ICH S1, OECD**
  - Bhas42アッセイ/新マーカーの発見
7. 腎毒性評価試験      **OECD**
8. 生理的動力学 (PBK) models／MPS
  - *in vitro* toxicokinetics      **ICH, OECD**





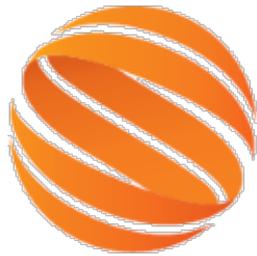
# JaCVAMの成果を受けて NIHS/CBSRにおけるNAMsへの対応

- |  |                 |   |          |
|--|-----------------|---|----------|
| 1. 生殖発生毒性試験  | ICH S5(R4)、OECD | ➡ | 毒性部      |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• ゼブラフィッシュ受精卵／ヒトiPS細胞</li> </ul>                      |                 |   |          |
| 2. 免疫毒性／皮膚感作性試験  | OECD            | ➡ | ゲノム安全科学部 |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• AOP／IATAの開発, α-SENS, Epi2sensA</li> </ul>           |                 |   |          |
| 3. 皮膚刺激性試験   | ISO             | ➡ | 医療機器部    |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• 培養表皮モデル</li> </ul>                                  |                 |   |          |
| 4. 口腔粘膜試験  | PMDA            | ➡ | 毒性部      |
| 5. 発熱性物質試験   | 薬局方             | ➡ | 微生物部     |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• 単球活性化試験</li> </ul>                                  |                 |   |          |
| 6. 非遺伝毒性発がん  | ICH S1, OECD    | ➡ | 病理部      |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Bhas42アッセイ/新マーカーの発見</li> </ul>                      |                 |   |          |
| 7. 腎毒性評価試験   | OECD            | ➡ |          |
| 8. 生理的動力学 (PBK) models／MPS   |                 | ➡ | 薬理部      |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>in vitro</i> toxicokinetics ICH, OECD</li> </ul> |                 |   |          |

# 小括

- OECDにおいては、全身毒性試験の代替法開発に向け、NAM (New Approach Methods) の考え方が浸透しつつある。
- OECD以外の国際機関での代替法の公定化に向け、JaCVAMのバリデーションが進みつつある。

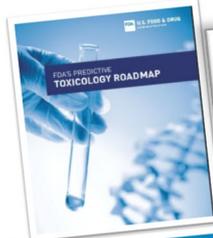
# 今後の展望



公立大学法人 山陽小野田市立  
**山口東京理科大学**  
Sanyo-Onoda City University

## FDAにおける代替法の推進

- Predictive Toxicology Roadmapの発行 (2017)
  - ✓ 生体模倣システム(MPS)の導入
- Alternative Methods Working Group発足 (2019)
- Advancing New Alternative Methodologies at FDAの発行 (2022)
- New Alternative Methods Program (\$5 million in 2023)
  - ✓ FDAが規制利用するための代替法の適格性を認定
  - ✓ 代替法開発者に対する明確なガイドラインの提供
  - ✓ 新たな政策やガイドライン策定を推進するための情報ギャップの解消

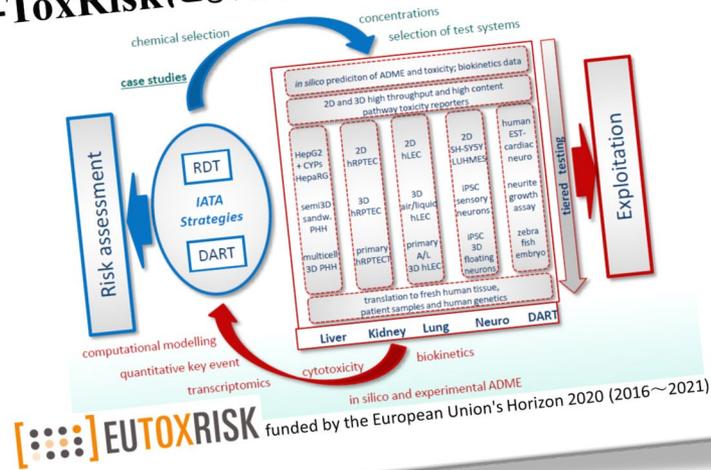


## 米国環境保護局(US EPA)が公表した動物を用いない新たな評価手法 New Approach Methods (NAMs)

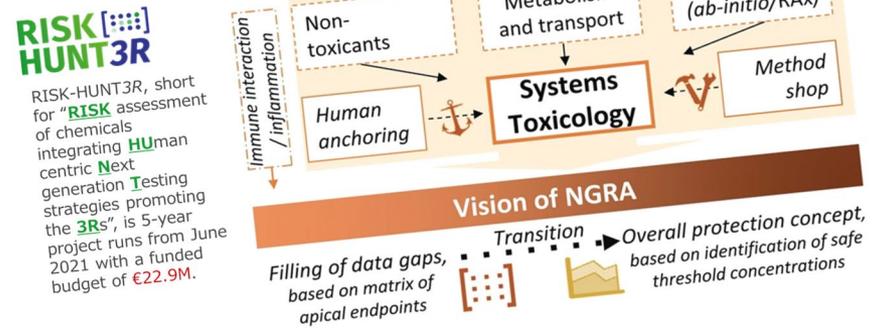
実験動物の使用を回避するための、化学物質の有害性およびリスク評価に関する情報を提供できるあらゆる技術、方法論、アプローチ、またはその組み合わせ



## EU-ToxRiskによる代替法開発の取り組み



## RISK-HUNT3R EU-ToxRiskの後継プロジェクト (2021~)



# NAMsの例 (New Approach Methods)



Environment International Volume 178 August 2023 Article 108082

## New Approach Methodologies (NAMs)

*In silico, in vitro, ex vivo and in chemico approaches*

### Computational, modeling and read-across methods

Quantitative structure-activity relationships (QSAR)  
 Physiologically based kinetic (PBK) models  
 Absorption, distribution, metabolism and excretion (ADME)  
*In vitro* to *in vivo* extrapolation (IVIVE)  
 Machine learning and artificial intelligence (AI)  
 Read-across

### Omic applications

Genomics  
 Transcriptomics  
 Proteomics  
 Lipidomics  
 Metabolomics  
 Interactomics  
 Nutrigenomics  
 Epigenomics  
 Exposomics

### Cell cultures

2D/3D Cell lines  
 Induced pluripotent stem cells (iPSCs)  
 Multicompartmental fluid bioreactors

### High-throughput screening (HTS) and imaging (HTI) bioassays

### Advanced imaging/scanning techniques

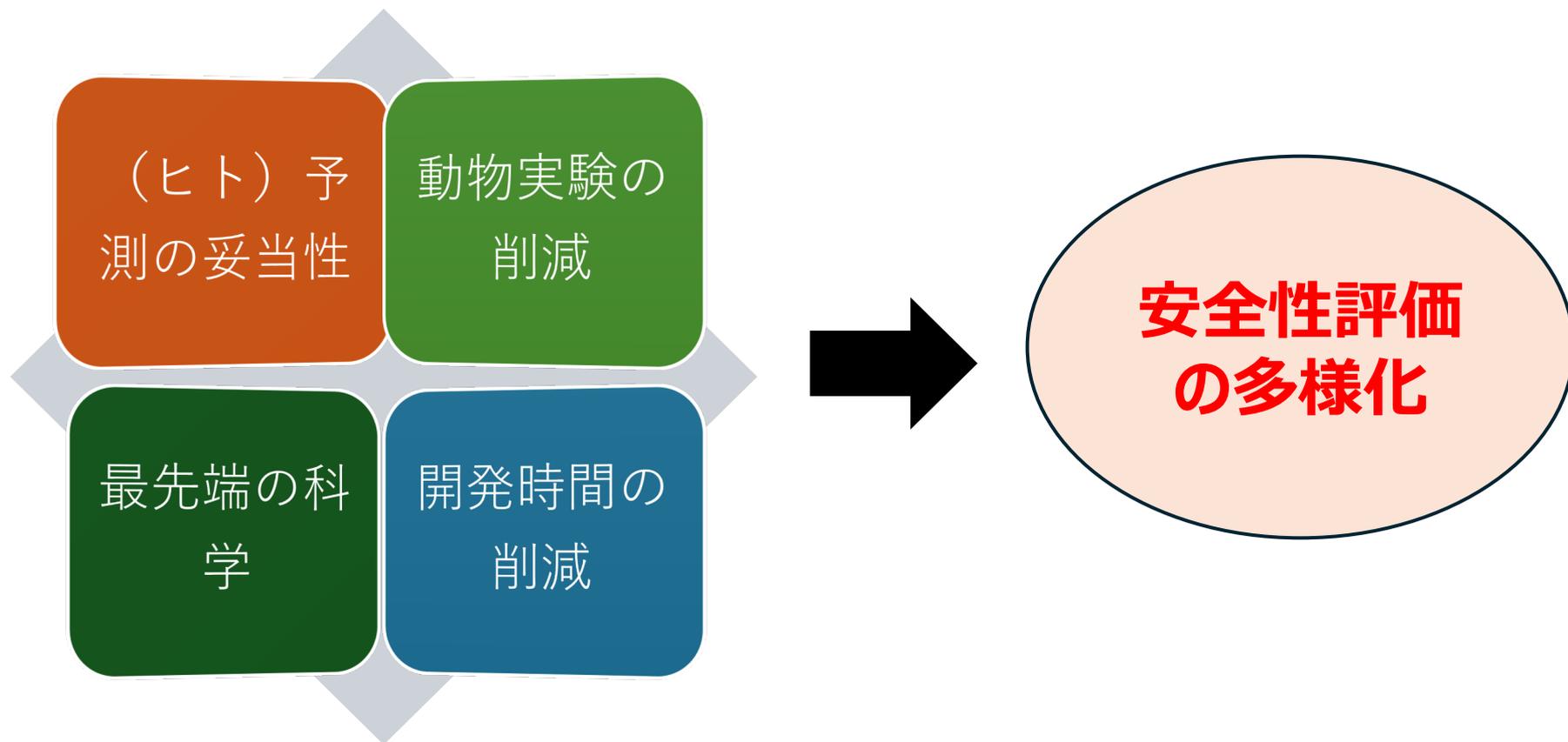
Magnetic resonance imaging (MRI)  
 Functional magnetic resonance imaging (fMRI)  
 Computerized axial tomography (CAT) with three-dimensional reconstruction  
 Positron emission tomography (PET)

### Tissue/organ engineering

Organoids  
 Microphysiological systems (MPS)  
 Organ-on-a-chip, human-on-a-chip

Fig. 1. List of methods, techniques, tools, applications and systems commonly encompassed under the umbrella of NAMs.

# 医薬品や化学物質のリスク評価におけるNAMの利用拡大

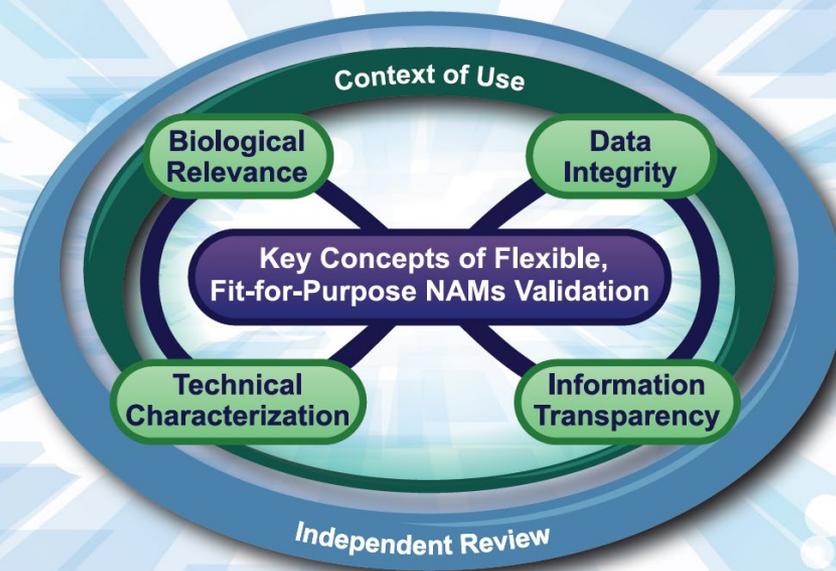




Interagency Coordinating Committee on  
the Validation of Alternative Methods

# Validation, Qualification, and Regulatory Acceptance of New Approach Methodologies

March 2024



# 総括

- ✓ **NAM**の開発・利用の拡大が見込まれる。鍵は試験法（**SOP**）の適格性確認である。再現性やデータ受け入れ基準、予測モデルが曖昧な試験法を行政当局は認めない。
- ✓ 改定バリデーション基準や適格性基準の国際的な合意が早期になされるべきである。
- ✓ 我が国の研究者は、**NIHS**を通して多くの**OECD TG**を開発してきた。我が国にも適格性基準を早めに導入し、**NAM**の行政的な受け入れに対処すべきと考える。

# 謝辞

すべてのJaCVAM関係者、試験法開発者、バリデーション参加施設、第三者評価書の皆さんに感謝します。

特に、JaCVAMの発展に寄与して頂いた以下の皆様に感謝の意を述べさせていただきます。敬称略でご容赦ください、

## 国立衛研

平林容子、大野泰雄、故井上達、西川秋佳、林真、広瀬明彦、故中澤憲一、足利太可雄、大野彰子、増田光輝、北條真紀、吉川環

## 食薬センター

小野 宏、小島幸一、田中憲穂

## 東京理科大学

吉村功、大森崇、寒水孝司

## 株式会社資生堂

板垣 宏、加藤 忍

**IMPACT** INNOVATIVE EXPLORATORY RESEARCH

**RESEARCH INSIGHTS**

PROFESSOR TAKESHI YAMADA Chief Executive Officer of Health Sciences	PROFESSOR MASAHIRO GOTO Chief Executive Officer of Health Sciences	PROFESSOR WONCHYK CHU Chairman of the Board of Health Sciences	PROFESSOR JAE-COOK S Chief Executive Officer of Health Sciences
--	---	---	--

## JaCVAM紹介記事

### Impact Objectives

- Contribute to efficient drug development and improved experimental animal welfare
- Explore opportunities where non-animal test methods can quickly evaluate whether new chemical substances are harmful to human health and all life on earth

## Alternatives to animal testing

Director of the Center for Biological Safety and Research (CBSR), National Institute of Health Sciences (NIHS), Dr. Yoko Hirabayashi envisions a world in which the use of non-animal methods can replace animal testing. She talks about her interrelated roles and important research.



Could you first introduce the important work of the Japanese Center for the Validation of Alternative Methods (JaCVAM) to reduce or refine (the 3Rs) animal testing?

Working hand-in-hand with related international organizations, JaCVAM has contributed to the development of new alternative methods to animal testing, promoted the adoption of these new methods by regulatory agencies and also worked to further the development by Japanese researchers of the novel test methods. It has also contributed to the international standardization of validation studies and the adoption of more than 15 test methods to the Organization for Economic Co-operation and Development (OECD) Test Guidelines and International Council for Harmonization of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH) guidelines.

How are your roles linked to the 3Rs of animal welfare?

I am the Director of the CBSR, which was established in 1998 as a research facility to investigate the safety of chemical substances and their effects on living organisms, particularly from a neutral standpoint. Its mission is to research and test the safety of substances which are subject to our studies, such as chemical substances, food and medicinal products using biological resources (such as experimental animals and cells) and conduct comprehensive safety

methods based on scientific grounds. The JaCVAM was organized within the CBSR by the National Institute of Health Sciences (NIHS) to promote the use of alternatives to animal testing for regulatory studies. I am the Chair of the JaCVAM Steering Committee. This Committee determines which novel or revised test methods are to be selected and assessed by JaCVAM. It also allocates both the financial and human resources necessary to undertake the scientific validation and assessment of such test methods based on the spirit of the 3Rs of animal welfare, as well as to respond to international trends on how to conduct animal experiments appropriately.

You are also the representative of the Japanese research group working on ICH-related issues. Endowed by the Japan Agency for Medical Research and Development (AMED), what is the purpose of this work?

The aim is to provide scientific evidence to develop or refine guidelines on safety evaluation and/or quality control of new drug registration in the ICH, and to achieve worldwide harmonization of processes based on the scientific consensus among academy, regulatory and industry experts. The outcomes in this study are also expected to contribute to prompt and efficient drug development and to experimental animal welfare: the so-called 3Rs.



## Innovations to eliminate animal testing

The JaCVAM is leading the way to develop non-animal testing methods in immunotoxicity and reproductive toxicity

Animals have been used for centuries in scientific research and in predicting safety to humans. For example, they have been used to test the safety of candidate drugs before they are tested in people. However, there is now a keen focus by scientists to develop new and innovative methods that do not rely on animal testing. Takao Ashikaga, Hajime Kojima and Yoko Hirabayashi are exploring alternative methods to animal testing in JaCVAM. It's important to develop a new method that does not use test animals for the evaluation of the safety of chemical and other substances, Hirabayashi highlights. They are all part of JaCVAM which works to promote the use of alternatives to animal testing. Ashikaga and Kojima share the role of secretary and Hirabayashi is the chair of the steering committee. JaCVAM contributes to replacing, reducing or refining (3Rs) the use of animals wherever possible, Hirabayashi explains.

What are the current work in progress?

The current work will contribute to ensuring the safety of various chemicals, including new ones that will be developed in the future, and to the welfare of experimental animals. The study is focused on the development of non-animal testing methods in the areas of immunotoxicity and reproductive toxicity, and will proceed in collaboration with the OECD and the ICH.

Through their study, the researchers have identified the key challenges facing the conversion of animal testing into the use of non-animal methods. One such limitation is the lack of biomarkers to more accurately

testing, more costly and complex non-animal methods are required. Non-animal test methods have been developed with the intention of detecting specific biomarkers based on adverse endpoints in humans. Therefore, to understand toxicity at the individual level, it is currently necessary to combine the results of several non-animal test methods, even if the focus is on biomarkers that can cause serious damage, Hirabayashi clarifies. The combinations are complicated and diverse, costly and the information is limited. This means there is a need to develop an easy way to obtain a lot of information. Without it, we believe that true non-animal testing will not take root in society, she says.

Towards realization of the ultimate goal, the researchers are also developing a number of other non-animal methods. The methods we are developing include, in vitro assays such as ordinary 2-dimensional culture, 3-dimensional culture including organoids or spheroids, reporter gene assay and organ-on-a-chip, and in silico assays such as computer toxicology using QSAR and Read Across, Hirabayashi reports. The organ-on-a-chip construct that the team is developing is an original microphysiological system (MPS) that will allow the researchers to model human tissues and look at how different compounds affect the tissue, she explains.

This innovative work has the potential to revolutionize approaches to scientific experiments and contribute to the 3Rs by helping to replace, reduce or refine the use of animals, profoundly benefiting

innovations emerging and advancing all the time, it makes sense to make use of those in the lab, where possible, to reduce animal testing, observes Hirabayashi.

### Project Insights

**FUNDING**  
AMED Grant Number (19k1500108), MHLW Grant Number (19k1500109) and NIHS Research Grant (2020-2024)

**ICATM PARTNER ORGANIZATIONS**  
Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods, US (ICVAM), European Union Reference Laboratory for Alternatives to Animal Testing (EURL-ECVAM), Health Canada, Canadian Centre for the Validation of Alternative Methods (CCVAM), Korean Centre for the Validation of Alternative Methods (KOCVAM), Brazilian Centre for the Validation of Alternative Methods (BICVAM)

**JaCVAM STEERING COMMITTEE**  
Yoko Hirabayashi, Chairperson

**CONTACT**  
Dr Yoko Hirabayashi  
T: 81-44-720-1600  
E: yoko\_hirabayashi@p.jst.go.jp  
W: https://www.jacvam.jp



Impact, Volume 2021, Number 8, October 2021, pp. 44-45(2)  
<https://www.ingentaconnect.com/content/sil/impact/2021/00002021/00000008/art00017#>  
 7#

# ご清聴ありがとうございました



公立大学法人 山陽小野田市立  
**山口東京理科大学**  
 Sanyo-Onoda City University