

2009-2010 年第 3 回 JaCVAM 評価会議議事録

日 時：平成 21 年 6 月 1 日(月) 14:00~17:00

場 所：国立医薬品食品衛生研究所 第一会議室

出席者：井上 達、横関博雄、中村和市、岡本裕子、吉村 功、五十嵐良明、吉田 緑、小野寺博志、
田中憲徳、吉田武美

オブザーバー：秋田正治、小島 肇、笛木 修、簾内桃子

以上敬称略、順不同

議題：

1. 前回議事録確認

井上議長の司会のもと、議事を進めた。

先回議事録（資料 1）に対する修正事項について、小島オブザーバーが主な修正点を説明した。特に質問、異議はでなかった。

2. 皮膚感作性試験 LLNA-BrdU 評価報告

小島オブザーバー（ob: LLNA-BrdU バリデーション実行委員長）が、資料 3 を用いて実験前にプロトコールで定められた採択基準を満たしたデータと、実験後に変更した採択基準を満たしたデータをそれぞれ比較して説明した。採択基準の変更によっても各物質における各施設の SI (stimulation Index) 値に変化はないと説明された。これに対して、吉村委員よりそれぞれの場合の感度、特異度（一致度）を算出するよう要望が出された。議事録提出時に再解析表を添付すると小島 ob が承諾した。

さらに、本試験の頑健性を中心に議論がなされた。吉村および中村委員より、本試験法は頑健性に難があり、試験法の感度の低さやプロトコールの遵守、トレーニングの必要性を明記すべきとの指摘があった。井上議長より BrdU の開発経緯や特性を考慮に入れ、絶対値で評価すべきであるとの指摘があった。

ELISA を用いて BrdU の検量線を求めておらず、現時点では絶対値での評価は難しい。開発者のいる化学物質評価機構にその有無を打診すると小島 ob が説明した。五十嵐委員より、リンパ重量と BrdU 量には相関関係がある。リンパ節懸濁液の液量を 15mL に固定したデータのみで一致度を解析すべきとの提案があった。これに対しても、議事録提出時に再解析表を添付すると小島 ob が承諾した。岡本委員より、SI 値を感作性強度分類の指標に使うか否かについて質問があり、LLNA では利用されていると小島委員が回答したところ、バラツキを考慮すると本試験法での利用に不安を感じるとの所管が述べられた。井上議長より、以上の各委員の意見を考慮すると、本試験法に関しては政治的な面からは受け入れざるを得ないかもしれないが、バリデーション結果からでは科学的に受け入れ難い（資料 4 および 5 参照）。さらなる議論が必要であるとされた。次回、小島 ob の提出した結果も考慮しながら、再検討することになった。

なお、中村委員より、LLNA-BrdU をフローサイトメトリーで測定する方法と区別するため、名称を変更すべきとの提案があった。米国での検討名称に合わせ、以後「LLNA: BrdU-ELISA」と変更したいと小島 ob から提案があった。

3. 光毒性試験法評価報告（笛木オブザーバー）

笛木 ob から資料 8 および 9 を用いて、酵母光生育阻害試験と赤血球光溶血性試験の組み合わせによる光毒性試験代替法の評価報告がなされた。バリデーション結果から、改良プロトコールを用いれば、適切

な施設間がなされていると説明され、光毒性物質のスクリーニング法として一定の有用性は認められるものの、以下に示すような問題点もあり、十分な信頼性を持って実用化するためにはまだ検討すべき問題点が残っていると説明された。

- 最終的なプロトコル条件下での検討物質数は 9 物質のみであり、本法が広範囲の被験物質に適用可能かどうか不明である
- 3T3-NRU 法との直接比較がなされておらず、同等性あるいは優越性が明確に示されていない
- 異なる光源を使用した際の結果の安定性について評価されていない
- 温度上昇による結果の差異が言及されているが、この点に関する追加検討が実施されていない
- 代謝活性化系が設定されていないため、経皮投与以外の全身曝露の際の安全性が評価できない
- バッテリーの 2 試験の実施順序を規定する必要性に関する検討がなされていない
- 酵母光生育阻害試験における陽性判定のカットオフ値について再検討の余地がある
- 赤血球光溶血試験の吸光度測定波長の選定に再検討の余地がある

質疑応答において、上記の問題点のうち、光源、本試験法のメリット（水難溶性物質の適用）、3T3-NRU 法との同等性等について意見交換がなされた。また、酵母と赤血球の試験順を変えても結論に差がない、酵母単独の評価でなくバッテリーの評価である等の追加意見があった。

以上の意見交換を経て、全会一致で次回会議において本評価会議報告書の作成に入ることが合意された。

4. 眼刺激性試験代替法の評価 ウシ摘出角膜の混濁および透過性試験

資料 2 に示す行政的受入れのための原理と基準をもとに、ウシ摘出角膜の混濁および透過性試験の評価を実施した。評価項目毎に吟味し、資料 12 に記載した。一部、新鮮な角膜を用いるとの記載が評価に用いた資料に書かれている内容か、日本の評価者の意見かが曖昧な部分があったことから、簾内 ob（評価委員長）に急遽お越し頂き確認した。資料には摘出後 2 時間以内に使用すると記載されているが、新鮮という言葉は日本の評価者が使った言葉であることが明らかになった。

評価文書案はほぼ最後までできあがったが、次回会議で見直し、最終稿とすることになった。

5. その他

次回会議は 7 月下旬に開催の予定である。

以上

配布資料

- 1) 2009-2010 年第 2 回 JaCVAM 評価会議議事録(案)
- 2) Principles and Criteria for regulatory acceptance of a new or updated method
- 3) LLNA-BrdU 法バリデーション研究 本実験第二次解析結果 Ver.0.1
- 4) (財) 化学物質評価研究機構より提案のあった皮膚感作性試験代替法 (LLNA-BrdU 法) の二次評価報告書
- 5) (財) 化学物質評価研究機構より提案のあった皮膚感作性試験代替法(LLNA-BrdU 法) の一次評価報告書(v5)
- 6) 眼刺激性試験代替法の第三者評価報告書 ウシ摘出角膜の混濁および透過性試験 (BCOP : Bovine Corneal Opacity and Permeability Test)
- 7) 眼刺激性試験代替法の第三者評価報告書 ニワトリ摘出眼球を用いた眼刺激性試験法 (Isolated Chicken Eye Test Method : ICE)
- 8) 酵母光生育阻害試験と赤血球光溶血性試験の組み合わせによる光毒性試験代替法の第三者評価
- 9) 酵母光生育阻害試験と赤血球光溶血性試験の組み合わせによる光毒性試験代替法の第三者評価報告書

- 10) 新規試験法提案書(案)
- 11) LLNA-BrdUバリデーション結果
- 12) 眼刺激性試験BCOPの行政的な推奨について