

牛摘出角膜を用いた眼刺激性試験代替法
(BCOP 法 : Bovine Corneal Opacity and Permeability Test)の
評価会議報告書

JaCVAM 評価会議

平成 21 年 (2009 年) 12 月 17 日
平成 23 年 (2011 年) 4 月 20 日改定

JaCVAM 評価会議

井上 達 (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)
田中憲穂 (食品薬品安全センター 秦野研究所)
吉田武美 (昭和大学薬学部)
横関博雄 (東京医科歯科大学)
吉村 功 (東京理科大学)
中村和市 (日本製薬工業協会)
岡本裕子 (日本化粧品工業連合会)
大島健幸 (日本化学工業協会)
小野寺博志 (医薬品医療機器総合機構)
見田 活 (医薬品医療機器総合機構)
吉田 緑 (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 病理部)
五十嵐良明 (国立医薬品食品衛生研究所 環境衛生化学部)

任期：平成 21 年 1 月 1 日～平成 22 年 3 月 31 日

西川秋佳 (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)
田中憲穂 (食品薬品安全センター 秦野研究所)
吉田武美 (昭和大学薬学部)
横関博雄 (東京医科歯科大学)
吉村 功 (東京理科大学)
渡部一人 (日本製薬工業協会)
岡本裕子 (日本化粧品工業連合会)
大島健幸 (日本化学工業協会)
小野寺博志 (医薬品医療機器総合機構)
小笠原弘道 (医薬品医療機器総合機構)
吉田 緑 (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 病理部)
五十嵐良明 (国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部)
長谷川隆一 (独立行政法人 製品評価技術基盤機構)
浅野哲秀 (元日東電工株式会社)

任期：平成 22 年 4 月 1 日～平成 24 年 3 月 31 日

オブザーバー：JaCVAM 運営委員

大野泰雄 (国立医薬品食品衛生研究所)
増田光輝 (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)
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 薬理部)
秋田正治 (日本動物実験代替法学会)
柴辻正喜 (厚生労働省 医薬食品局 審査管理課 化学物質安全対策室)
美国慎一 (経済産業省 製造産業局 化学物質安全対策室)

任期：平成 21 年 1 月 1 日～平成 22 年 3 月 31 日

大野泰雄 (国立医薬品食品衛生研究所)
関野祐子 (国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 薬理部)

増田光輝（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）
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 薬理部）
秋田正治（日本動物実験代替法学会）
柴辻正喜（厚生労働省 医薬食品局 審査管理課 化学物質安全対策室）
実国慎一（経済産業省 製造産業局 化学物質安全対策室）

任期：平成 22 年 4 月 1 日～平成 23 年 4 月 30 日

以上

眼刺激性試験代替法であるウシ摘出角膜の混濁及び透過性試験（BCOP法：Bovine Corneal Opacity and Permeability Test）について、第三者評価委員会からの報告を受け¹⁾、以下の8項目について審議した。7項目まではOECDガイダンス文書 No. 34に示された検討項目である²⁾。なお、本動物実験代替法の利用にあたっては、適用範囲を十分に配慮した上で使用されるべきである。

<審議内容>

1. 検討対象の試験法とその妥当性を示すデータは、透明で独立な評価を受けているか。

当該試験法は、従来の眼刺激性評価法である Draize 試験法に替わり、ウシ眼球から摘出した角膜に、被験物質を暴露し、角膜に生じる物理的特性の変化から被験物質の眼刺激性を評価する方法である。

当該試験法では、角膜の濁濁度（測定値）、角膜透過性（測定値）を基に眼の腐食性・強刺激性を評価する。

独立した委員会（ICCVAM）が^{注釈1}、国際的に公表された論文を集め、妥当性が認められた8報告（計161物質）を用いた評価が公表されているので³⁻¹⁰⁾、透明で独立した評価がなされていると判断できる。

この評価データをもとに、「JaCVAM 眼刺激性試験代替法評価委員会」によって評価された。

2. 当該試験法で得られるデータは、対象毒性を十分に評価あるいは予測できるものであるか。データは、当該試験法と従来の試験法の、代替法としての繋がりを示しているか。あるいは（同時に）そのデータは、当該試験法と、対象としているあるいはモデルとしている動物種についての影響との繋がりを示しているか。

Draize 試験法は、角膜評価（肉眼判定）に重みを置いており、角膜を評価する当該試験法で眼の腐食性・強刺激性を予測することは妥当である。

すなわち、動物種により角膜の解剖学的及び生理学的な違いがあるが、現在のウサギを用いた Draize 法でヒト眼への重篤な傷害を予測できると考えられていることから、ウシ角膜を用いた当該試験法でも予測できる。

当該試験法の結果の一致性については、Draize 法試験結果を基にして GHS 分類^{注釈2}、US EPA 分類^{注釈3}および EU 分類毎に確認したところ、その間に差はなく、GHS 分類の結果と比較して、一致度が概ね 80%であったことから、本試験法は高い予測性をもつ。

3. 当該試験法は、ハザードあるいはリスク、あるいはその両方を評価するのに有用であるか。

当該試験法は、危険有害性の識別区分への対応を目的として開発された試験法であり、ハザード評価に有用であるが、リスク評価には不適當である。

当該試験法は、暴露直後の角膜の変化を評価する方法であり、その後の回復等の評価はできない。

4. 当該試験法とその妥当性を示すデータは、その試験法で安全性を保証しようとする、行政上のプログラムあるいは関係官庁が対象としている化学物質や製品を、十分広く対象としたものとなっているか。当該試験法が適用できる条件及び適用できない条件が明確であるか。

当該試験法の妥当性を示すデータは、合計 161 の化学物質または製品が試験され、単一の化学物質や市販品あるいは製剤など混合物で行われており、また様々な化学構造、性質、性状の物質、かつ種々

の刺激性強度のものが対象となっており、適用できる物質の範囲が明確である。

当該試験法は対象とする物質の腐食性・強刺激性を多くの対象物質で評価できる。ただし、アルコール類、ケトン類、性状が固体のものについての予測性能は不十分である。

当該試験法は、暴露直後の角膜の変化を評価する方法であり、その後の回復等の評価はできない。

5. 当該試験法は、プロトコルの微細な変更に対して十分頑健で、適切な訓練経験を持つ担当者と適切な設備のある施設において、技術習得が容易なものであるか。

当該試験法は、評価されたバリデーション試験におけるプロトコルに微細な違いにも係わらず、結果の再現性は良好であったので十分頑健であると判断される。

当該試験法は簡便であり、適切な設備と訓練により、技術の習得が容易である。

6. 当該試験法は、時間的経費的に有用性があり、行政上で用いられやすいものであるか。

試験費用面では Draize 法と大きな違いはないが試験期間は短縮される。

ウサギを用いる試験では 1-21 日かかるが、本試験法では、眼球が入手できれば、5-7 時間で終了する。しかし、病理組織学的検査を実施すると時間的な差はほぼ同じである(評価報告書¹⁾ p 11)。

試験法の有用性の観点から、病理組織学的観察を組み入れることで、角膜の損傷程度についてさらに詳細に評価することが提案されているが、組織形態レベルでの影響を判定できる明確な基準の設定が必要である。なお、腐食性・強刺激性物質を判定するという目的で BCOP 法を実施する場合は、病理組織学的観察は必ずしも必要ではない。

現時点では日本国内での日常的な実施は困難であるが、国外には受託機関 (1 施設) があり、委託が可能である。

7. 当該試験法は、従来の試験法と比べて、科学的・倫理的・経済的に、新しい試験法あるいは改訂試験法であることが正当化されているか。

当該試験法は、既存の方法を踏襲し、かつ角膜に焦点を当てた簡便で適切な評価法であり、腐食性・強刺激性を評価する上で、科学的には既存の方法とほぼ同等である。

当該試験法は、Draize 法と比較して倫理的に優れている。

当該試験法は、経済的な動物実験代替法となる可能性があるが、日本では、ウシ眼球の日常的な入手が困難であることから、現状では海外への委託対応となる。

8. 安全性評価のための行政的資料として、受け入れ可能な試験法であるか。

化学物質による直接的な腐食性・強眼刺激性を評価できる方法である。その範囲において、行政的な利用は可能である。

以上の審議の結果、JaCVAM 評価会議は、眼刺激性試験代替法(BCOP 法)を定められた方法で注意点を適切に守って利用すれば、化学物質の腐食性・強刺激性を科学的に評価できると結論した。

注釈

1. ICCVAM: Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods,
USA

2. GHS: Global Harmonized System of Classification and Labeling of Chemicals
3. US EPA: United States Environmental Protection Agency

参考文献

1. 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及び透過性試験
2. OECD (2005) OECD Series on testing and assessment Number 34, Guidance document on the validation and international acceptance of new or updated test methods for hazard assessment, ENJ/JM/MONO(2005) 14
3. Gautheron et al. (1994)
4. Balls et al. (1995)
5. Swanson et al. (1995)
6. Gettings et al. (1996)
7. Casterton et al. (1996)
8. Southee (1998)
9. Swanson and Harbell (2000)
10. Bailey et al. (2004)