

# 評価会議報告書

皮膚感作性試験代替法 ADRA:アミノ酸誘導体結合性試験

JaCVAM 評価会議

令和 5 年(2023 年)12 月 12 日

## JaCVAM 評価会議

- 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 病理部/  
名古屋徳洲会総合病院) : 座長
- 小島 幸一 (一般財団法人 食品薬品安全センター)
- 中村 りこ (独立行政法人 製品評価技術基盤機構)
- 西村 次平 (独立行政法人 医薬品医療機器総合機構)
- 平林 容子 (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)
- 松本 一彦 (名古屋市立大学大学院)

任期：令和4年4月1日～令和6年3月31日

JaCVAM 評価会議は、皮膚感作性試験資料編纂委員会により作成された「皮膚感作性試験代替法 Amino acid Derivative Reactivity Assay (ADRA : アミノ酸誘導体結合性試験) 評価報告書」<sup>1)</sup>をもとに本試験法の科学的妥当性、社会のおよび行政的な受け入れ性について検討した。

## 1. 試験法の定義および科学的妥当性

名称 : アミノ酸誘導体結合性試験 (Amino acid Derivative Reactivity Assay : ADRA)

代替する対象毒性試験 : マウスを用いる局所リンパ節試験 (Local Lymph Node Assay: LLNA)<sup>2)</sup>

### 科学的妥当性 :

当該試験法は、感作性発現機序における初期の重要な Key Event (KE) であるタンパク質と化学物質の結合反応をもとに皮膚感作性の有無を検出できる *in chemico* 皮膚感作性試験であり<sup>3)</sup>、LLNA を代替できる試験として、経済協力開発機構 (Organisation for Economic Co-operation and Development : OECD) 試験法ガイドライン (Test Guideline: TG) 442C に記載されている<sup>4)</sup>。

求核試薬としてナフタレン環を導入したシステインあるいはリジンを用い、被験物質と求核試薬を混合・反応させた後、24 時間後における未反応の求核試薬量を紫外線 (Ultra Violet: UV) 検出器および蛍光 (Fluorescence: FL) 検出器を搭載した高速液体クロマトグラフィー (High Performance Liquid Chromatography : HPLC) で分析することから、科学的には妥当な手法である。

## 2. 目的とする物質又は製品の毒性を評価する試験法としての、社会的受け入れ性および行政上の利用の可能性

### 社会的受け入れ性 :

本試験法は、汎用 HPLC およびその技術を保有する施設で容易に実施可能である。また、本試験法は動物を用いない *in chemico* の手法であり、3Rs の精神と合致している。さらに 1 化合物あたりの試験消耗品費用は LLNA と比べて安価である。ADRA の試験期間は LLNA や他の代替法と比べて短く、試験法として簡便性・経済性の面から有用と考えられる。

### 行政上の利用性 :

本試験法は、感作性発現機序における初期の重要な事象であるタンパク質と化学物質の結合反応を検出しており、化学物質の感作性を判断する上で重要な情報を与えてくれる。ただし、本試験法は代謝系を欠く化学的試験法であり、活性化に代謝系や非生物的活性化を必要とする感作性物質、弱い感作性物質や金属塩、疎水性の高い物質などは正しくその感作性が検出されない可能性がある。以上の事実を踏まえ、本試験法は他の代替法と同様、単独で皮膚感作性を評価できず、OECD ガイドライン 497<sup>5)</sup>に記載されているような細胞を用いる他の KE を対象にした代替法や構造活性相関 (Quantitative Structure-Activity Relationship: QSAR) 等の *in silico* 手法と組み合わせての利用を推奨するものである。

参考文献（最終確認日：2023年9月20日）

- 1) JaCVAM 皮膚感作性試験資料編纂委員会：皮膚感作性試験代替法 Amino acid Derivative Reactivity Assay (ADRA：アミノ酸誘導体結合性試験) 評価報告書(2023年6月7日)
- 2) OECD (2010) OECD Guidelines for the Testing of Chemicals No. 429. The Local Lymph Node Assay (LLNA), Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris. Available at: [https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-429-skin-sensitisation\\_9789264071100-en](https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-429-skin-sensitisation_9789264071100-en)
- 3) Fujita M, Yamamoto Y, Tahara H, Kasahara T, Jimbo Y, Hioki T, (2014) Development of a prediction method for skin sensitisation using novel cysteine and lysine derivatives, Journal of Pharmacological and Toxicological Methods, 70: 94-105.
- 4) OECD (2023) OECD Guidelines for the Testing of Chemicals No. 442C. *In chemico* skin sensitisation assays addressing the Adverse Outcome Pathway Key Event on Covalent Binding to Proteins. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris. Available at: [https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-442c-in-chemico-skin-sensitisation\\_9789264229709-en](https://www.oecd-ilibrary.org/environment/test-no-442c-in-chemico-skin-sensitisation_9789264229709-en)
- 5) OECD (2021) OECD Guideline for the Testing of Chemicals No. 497. Defined Approaches on Skin Sensitisation. Organization for Economic Cooperation and Development, Paris. Available at: [https://www.oecd-ilibrary.org/environment/guideline-no-497-defined-approaches-on-skin-sensitisation\\_b92879a4-en](https://www.oecd-ilibrary.org/environment/guideline-no-497-defined-approaches-on-skin-sensitisation_b92879a4-en)