

In vitro 経皮吸収試験 (*in vitro* 皮膚透過試験) の
評価会議報告書

JaCVAM 評価会議

平成 25 年 10 月 21 日

JaCVAM 評価会議

- 吉田武美 (日本毒性学会) : 座長
浅野哲秀 (日本環境変異原学会)
五十嵐良明 (国立医薬品食品衛生研究所 生活衛生化学部)
一鬼 勉 (日本化学工業協会) *
大島健幸 (日本化学工業協会)
大野泰雄 (座長推薦) *
小笠原弘道 (独立行政法人 医薬品医療機器総合機構)
小野寺博志 (独立行政法人 医薬品医療機器総合機構)
黒澤 努 (日本動物実験代替法学会)
杉山真理子 (日本化粧品工業連合会)
谷田智子 (独立行政法人 医薬品医療機器総合機構) *
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)
長谷川隆一 (独立行政法人 製品評価技術基盤機構)
牧 栄二 (日本免疫毒性学会)
増田光輝 (座長推薦)
山田隆志 (独立行政法人 製品評価技術基盤機構) *
横関博雄 (日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会)
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)
吉村 功 (座長推薦)
渡部一人 (日本製薬工業協会)

任期 : 平成 24 年 4 月 1 日 ~ 平成 26 年 3 月 31 日

* : 平成 25 年 4 月 1 日 ~ 平成 26 年 3 月 31 日

以上

当該試験法は、以下の通知やガイドラインに規定されるヒトまたは実験動物から摘出した皮膚を用いた化学物質の皮膚透過性を測定する試験法である。対応する従来試験は、ヒトまたは実験動物の皮膚に化学物質を直接塗布又は貼付してその血中濃度を測定する試験であるが、特定のプロトコルを規定した試験法ではない。

一方、ラットの皮膚に放射性ラベルした化学物質を直接塗布又は貼付して血中、組織、尿中の放射活性を測定する試験法は OECD TG 427 (Skin Absorption: In Vivo Method)として規定されているが、化学物質の代謝物も含んだ測定であるため、当該試験法に対応する従来試験法には該当しない。

- ① Opinion on Basic Criteria for the *in vitro* assessment of dermal absorption of cosmetic ingredients - updated March 2006 (Adopted by the SCCP during the 7th plenary of 28 March 2006)
- ② Test guideline 428: OECD Guideline for the Testing of chemicals: Skin Absorption: *in vitro* Method (Adopted 13 April, 2004)
- ③ COLIPA GUIDELINES: Guidelines for percutaneous Absorption/Penetration (Edition of 1997)

今回、異なる機関から示されている上記の皮膚透過性試験法について「皮膚透過試験評価委員会」がとりまとめた報告¹⁾、²⁾を受け、以下の10項目について評価したので報告する。

<審議内容>

1. 当該試験法は、どのような従来試験法を代替するものか。または、どのような毒性を評価あるいは予測するものか。

当該試験法は、ヒトまたは実験動物の皮膚に化学物質を直接塗布又は貼付して全身曝露量を把握する従来の *in vivo* による（皮膚からの吸収量を測定する）方法を代替するものである。

当該試験法は化学物質の皮膚を介する透過性を測定するものであり、毒性を評価あるいは予測するものではない。

2. 当該試験法と従来試験法の間にはどのような科学的なつながりがあるか？

当該試験法はヒトまたは実験動物から摘出した皮膚を用いて化学物質の皮膚透過量を評価する *in vitro* のモデル系であり、皮膚透過量から全身曝露量の推定が可能である。

従来の試験はヒトまたは実験動物の皮膚に化学物質を塗布または貼付し、吸収された化学物質の量(血中濃度)を測定する *in vivo* 試験である。

両試験ともに、皮膚からの化学物質の吸収に対する主要なバリアとなる角質層を有する点で科学的なつながりがある。

3. 当該試験法とそのデータは、透明で独立な科学的評価を受けているか。

当該試験法は、それぞれ、EU、OECD および欧州化粧品協会から発行されたもので、データは透明性があり独立した評価が行われている。

検討対象の3試験法に関する公式の検証はなされていないが、OECDの専門家はOECD TG 428を支持するに十分なデータのあることに合意している³⁾。

4. 当該試験法は、従来試験法の代替法として、どのような物質又は製品を評価することを目的としているか。

従来試験法は皮膚に適用又は曝露した化学物質の血中濃度-時間曲線下面積 (AUC) を求める方法であるのに対し、当該試験法は皮膚適用又は曝露した化学物質の皮膚を介する吸収量を求める試験である。

当該試験法は、一般化学物質の皮膚透過性を把握するほか、化粧品、皮膚適用の外用医薬品 (貼付剤) および医薬部外品等、又はそれら製品に含まれる新規原料物質のために、経皮的全身曝露を評価する従来試験の代替法として利用が可能である。

5. 当該試験法は、ハザード評価あるいはリスク評価のどちらに有用であるか。

当該試験法は、本試験結果から得られる化学物質の皮膚透過量に基づき、*in vivo*での経皮投与による全身曝露量を推定することが可能であるので、当該化学物質のリスク評価に有用である。

6. 当該試験法は、目的とする物質又は製品の毒性を評価できるか。その場合、当該試験法の適用条件が明確になっているか。

当該試験法は、対象とする化学物質又は製品の全身曝露による吸収量を推定評価するもので、毒性評価を直接目的とするものではない。

なお、対象とする化学物質の物性に応じた当該試験法の適用条件等は明確になっている。

7. 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あるか。

プロトコルの微細な変更には頑健であるが、試験に用いる摘出皮膚の部位や性状に応じて、結果の解釈を慎重に行う必要がある (新鮮皮膚か凍結皮膚か、毛穴の有無他)。

8. 当該試験法の技術習得は、適切な訓練と経験を経ている担当者にとって容易なものであるか。試験法の実施に特殊な設備が必要か。

当該試験に用いる摘出皮膚は、酵素や熱および化学処理等により剥離した表皮、あるいは厚さ 200 ~ 400 μm に薄切した皮膚組織である。市販の標品を用いる限り、その後の培養や試験手技等の技術習得は容易なものであるが、ダーマトームで皮膚を薄切して試験標品を自ら作製する技術は熟練を要する。

また、皮膚標品を自ら作製する場合にはダーマトームが必要となる。トリチウム水を用いた皮膚バリアの健全性の確認 (Integrity 測定) および標識された被験物質を用いる場合には RI 設備が必要となる。

9. 当該試験法は、従来試験法と比べて時間的経費的に優れているか。

当該試験法では、動物実験に伴う経費が削減でき、経費的に優れている。ただし、RIを使用する場合は経費的に劣る。

一方、時間的な優位性についての検討はなされていない。

10. 当該試験法は、動物福祉の観点及び科学的見地から、目的とする物質又は製品の毒性を評価する代替法として、行政上利用することは可能か。

当該試験法は動物福祉の3Rの観点から推奨され、欧米では一般的に使われ、我が国でも経皮吸収試験に広く用いられている。当該試験法は、化学物質の皮膚からの透過性を測定するものであり、毒性を評価あるいは予測するものではないが、目的とする物質又は製品の全身曝露量を推定する代替試験法として、行政上利用することは可能である。

参考文献

- 1) 「*In vitro* 経皮吸収試験 (*in vitro* 皮膚透過試験)」 皮膚透過試験評価委員会編
- 2) 「*In vitro* 皮膚透過性試験法の確立の経緯」 皮膚透過試験評価委員会編
- 3) OECD (2000). Report of the Meeting of the OECD Extended Steering Committee for Percutaneous Absorption Testing, Annex 1 to ENV/JM/TG(2000)5. OECD, Paris.

