

# 単回投与毒性試験代替法の評価会議報告書

JaCVAM 評価会議

平成 23 年（2011 年）4 月 20 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）  
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）  
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

単回毒性試験代替法について、第三者評価委員会からの報告を受け<sup>1)</sup>、以下の9項目について審議した。本2～8項目はOECDガイダンス文書 No. 34 に示された検討項目である<sup>2)</sup>。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. 検討対象の試験法は、日本のどの法規制やガイドラインに関係しているか。

毒物に関しては、毒物及び劇物取締法についての通知\*で、「毒物又は劇物の指定等を判断するための試験法として、OECD 化学物質試験ガイドライン 401 に替わり、OECD 化学物質試験ガイドライン 420(固定用量法)、同 423(急性毒性等級法)、同 425(上げ下げ法)を推奨する」こととしている。これに関係している。

\*平成 14 年 12 月 9 日、医薬化発第 1209001 号：毒物及び劇物取締法における毒物又は劇物の指定等を判断するために必要とされる試験法について

新規化学物質に関しては、化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律（化審法）における試験法に関する通知\*で、急性毒性試験を反復投与毒性試験の予備試験として実施する際には、OECD Test Guideline の試験法を参考にするのが望ましい、としている。これが関連している。

\*平成 15 年 11 月 21 日 薬食発第 1121002 号、平成 15・11・13 製局第 2 号、環企発 第 031121002 号、「新規化学物質等に係る試験の方法について」（最終改正：平成 18 年 11 月 20 日）

農薬に関しては、通知\*「農薬の登録申請時に提出される試験成績の作成に係る指針の付表、単回毒性試験」で、「固定用量法」と「急性毒性等級法」が推奨されている。これが関係している。

\*農林水産省農産園芸局長通知、平成 12 年 11 月 24 日、12 農産第 8147 号：農薬の登録申請に係る試験成績について

医薬品に関しては、薬事法の施行規則で「医薬品の製造（輸入）承認申請に際して添付すべき資料」を指定している。その中に単回投与毒性試験の資料が含まれており、これが一般に急性毒性試験と呼ばれている試験法で得られる資料である。これについては通知\*で、単回投与毒性試験のやり方が定められている。そこでは「概略の致死量」が求められているだけで、LD50 を求めることは必須とされていない。

\*平成 5 年 8 月 10 日、薬新薬第 88 号：単回及び反復投与毒性試験ガイドラインの改正について

医療機器に関しては、急性毒性を示すような抽出物が存在しないことが求められている。しかし、そこでは、生理食塩液と植物油の2種類の抽出媒体で調整した抽出液で試験することが求められているだけで、LD50 等を求める必要がないので、当該試験法とは関連がない。

\*平成 15 年 2 月 13 日、医薬審発第 0213001 号「医療用具の製造（輸入）承認申請に必要な生物学的安全性試験の基本的考え方について」、平成 15 年 3 月 19 日：事務連絡 医療機器審査 No. 36 「生物学的安全性評価の基本的考え方に関する参考資料について」

輸液用ゴム栓に関しては、「第十五改正日本薬局方 7.03」で急性毒性試験が求められている。しかしこれは、一定用量での試験であり、当該試験法とは関連がない。

2. 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。

当該試験法の妥当性は、日本国内では実験的に評価されていない。

しかし国外では、NICEATM 及び ECVAM が、2002 年から 2005 年にかけて、72 種類の化学物質を用いて妥当性を検証している。

その評価状況は、Background Review Document (BRD)<sup>3)</sup>として公開されている。

3. 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。

当該試験法は、従来の試験法の全体を代替するのではなく、従来の試験法での初回投与量の設定法を代替するものである。

4. 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、前項の問に対する回答と同じ理由で、ハザード評価に直接資するものではないが、間接的には有用である。

5. 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。

当該試験法は、化学物質の安全性を保証するためのものではない。次の場合に適用できないことは明確である。

- 代謝により活性化されて毒性を発現する場合
- 神経毒性、心臓毒性等特異的な作用機序により毒性を発現する場合。
- 細胞培養液に不溶性の物質、揮発性の物質、ライソゾームへの特異的影響を与える物質、neutral red の吸光度と重なる有色の物質。

6. 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。

当該試験法のプロトコルの頑健性について、実験データ上の根拠はない。

しかし、当該試験法の実験手順は、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。

7. 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。

当該試験法の時間的経費的有用性を示す決定的定量的データは、シミュレーション試算以外に存在しない。従って、定量的にどのような有用性があるかは確かでない。

定量的にどのような有用性があるかは確かでないので、行政上で用いられやすいものとは言え

ない。

8. 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。

従来法が評価対象としている個体の死にはいくつかのメカニズムが存在している。これに対して当該試験法は、細胞死を指標として評価しているので、科学的妥当性は限定的である。

しかし、初回投与量を当該試験法で定めることは、従来法と比べて、決定的な悪影響を与えるものでないことから、限定した条件の下では、科学的妥当性が認められる。

倫理的には新しい提案であるが、経済的有用性は明らかではない。

9. 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。

本試験法は、急性毒性試験における初回投与量を設定する手法となる。

以上の審議の結果、JaCVAM 評価会議は、単回毒性試験代替法について以下のように結論した。

当該試験法の有用性はそれほど大きなものでない。

しかし、これを採用することの利点は存在し、しかも欠点は致命的なものでない。

強制力を持たせないで、これを行政的に提案し、推奨することは、3R原則にそったものである。

#### 参考文献

1. 急性毒性試験代替法の第三者評価報告書
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. Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods (ICCVAM), National Toxicology Program (NTP), et al. Background Review Document: “*in vitro* Cytotoxicity Test Methods for Estimating Acute Oral systemic Toxicity”, NIH Publication No: 07-4518