

1

2 7.5. 照射、非照射における溶血度の用量反応関係

3

4 図 7.5.1～図 7.5.18 に、本試験、予備試験における照射・非照射の溶血度の用量反応関係
5 を示す。これらの図において、縦軸は溶血度の差（%）、横軸は底が 2 の対数スケールの濃
6 度(mg/ml) である。プロットの文字は照射と非照射の違いを示しており、「P」が照射、「N」
7 が非照射である。同じ実験を線で結んでいる。なお、これらの図の中には、すべての図の
8 軸の範囲を同じするために極端な値が図に描かれていない場合があるが、値の方向はプロ
9 ットを結ぶ線により確認できる。

10

11

12

13

14

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33

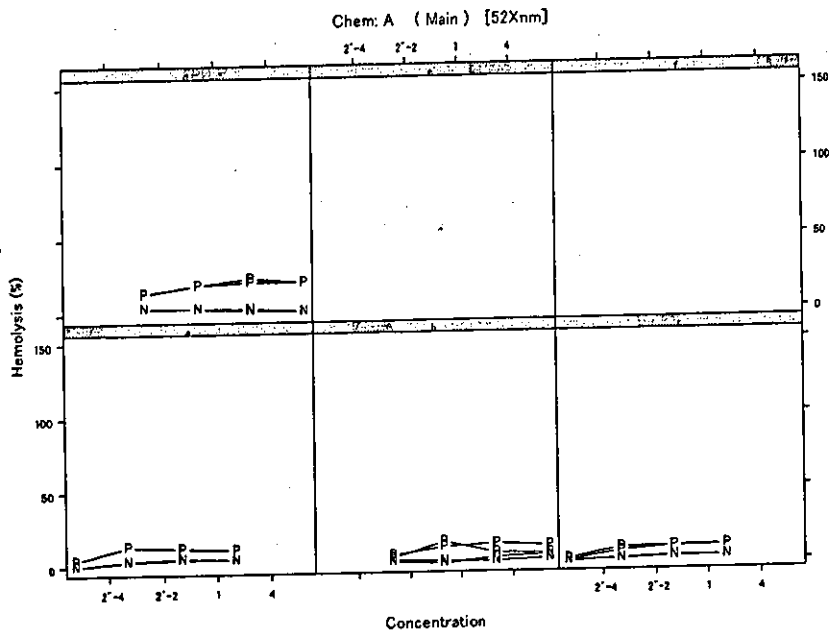


図 7.5.1 物質 A の照射・非照射における溶血度の用量反応関係 (本試験)

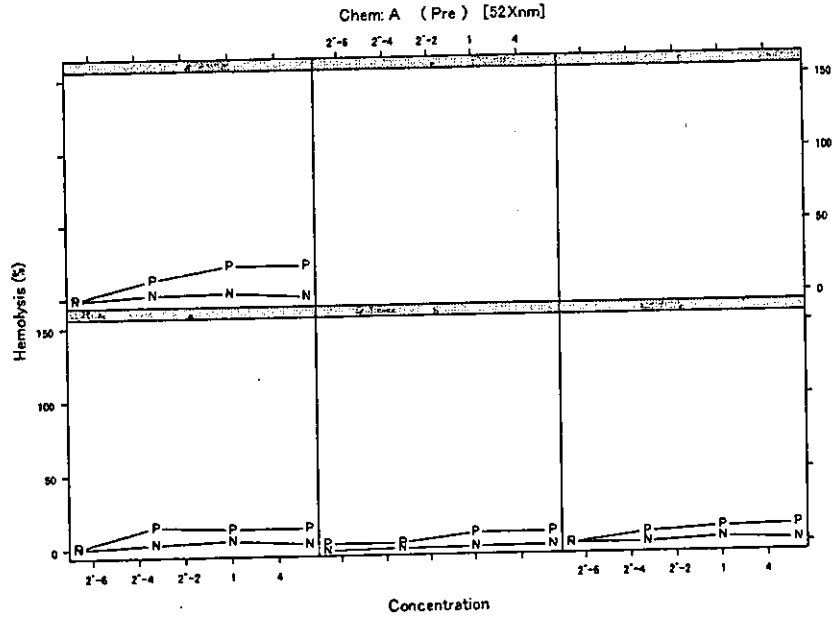


図 7.5.2 物質 A の照射・非照射における溶血度の用量反応関係 (予備試験)

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33

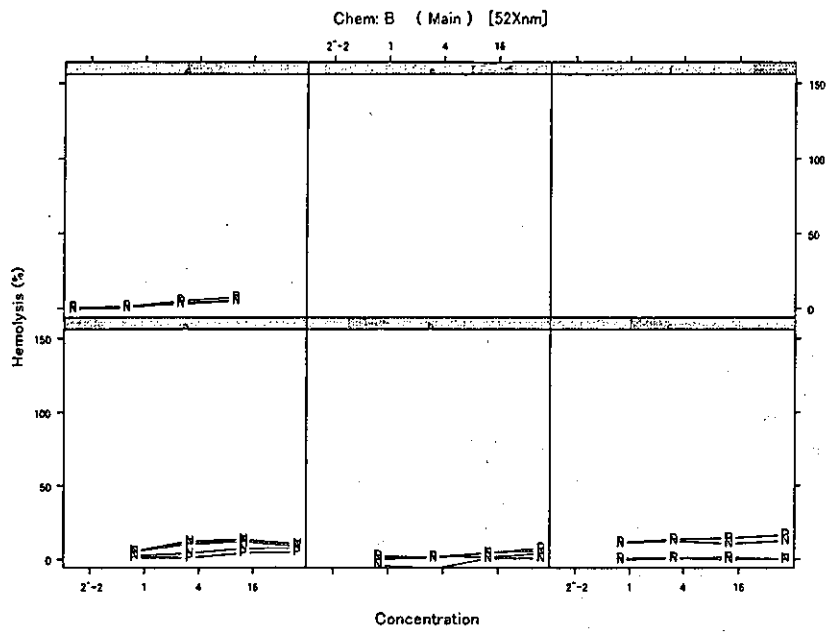


図 7.5.3 物質 B の照射・非照射における溶血度の用量反応関係 (本試験)

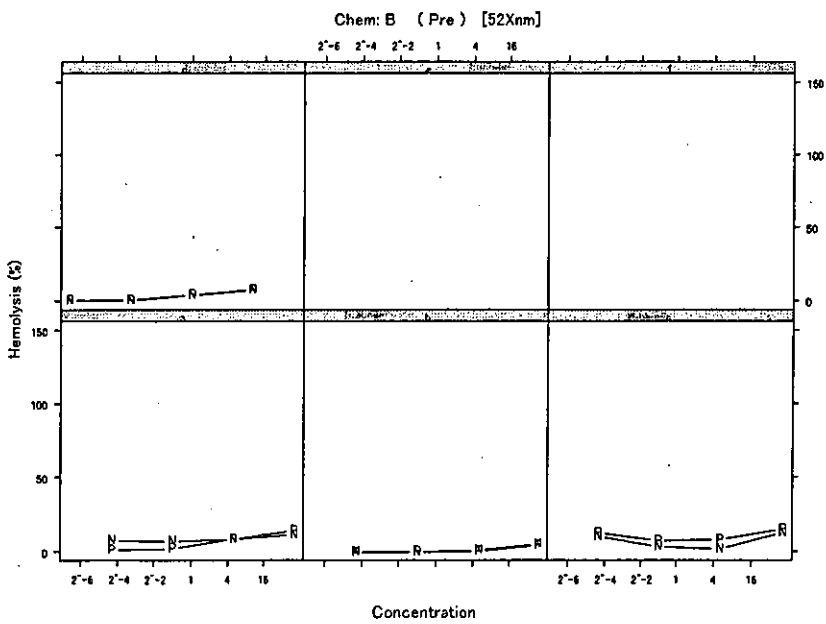


図 7.5.4 物質 B の照射・非照射における溶血度の用量反応関係 (予備試験)

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35

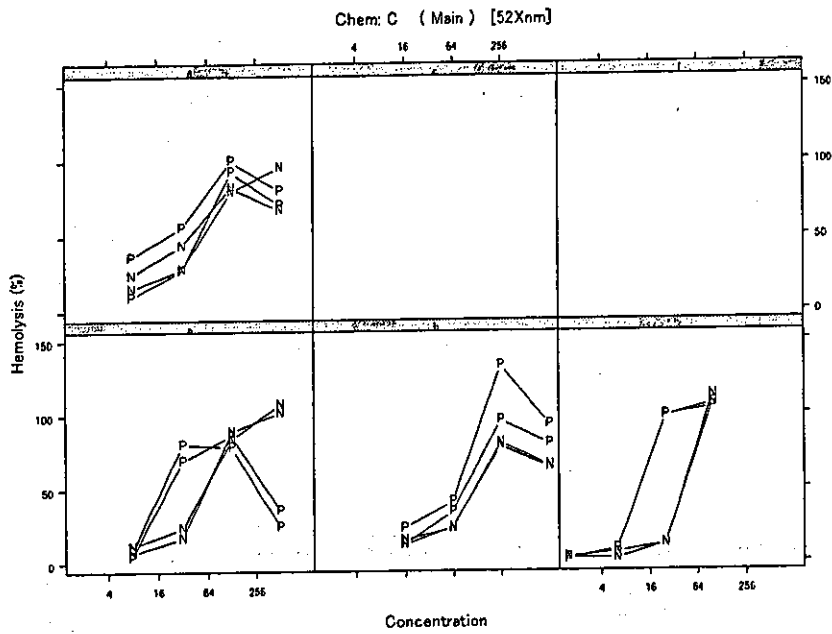


図 7.5.5 物質 C の照射・非照射における溶血度の用量反応関係 (本試験)

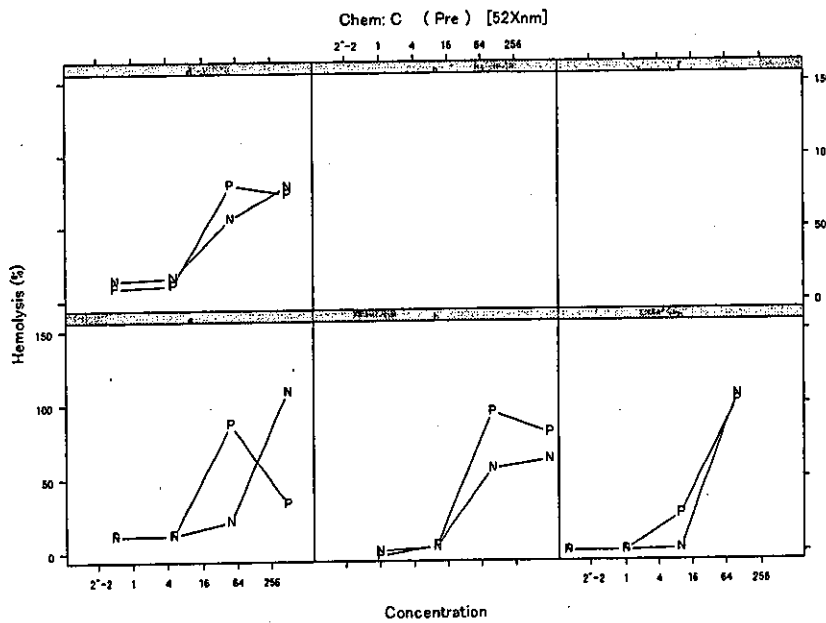
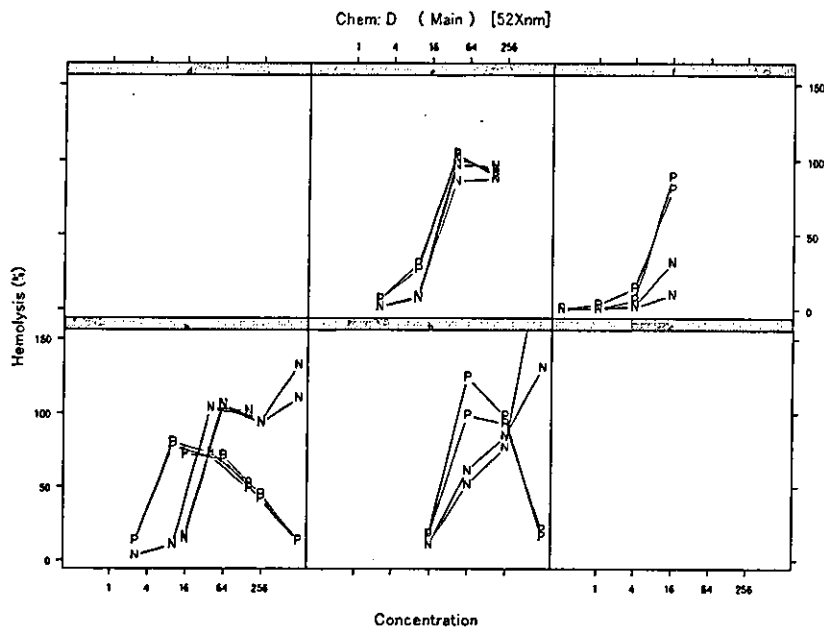
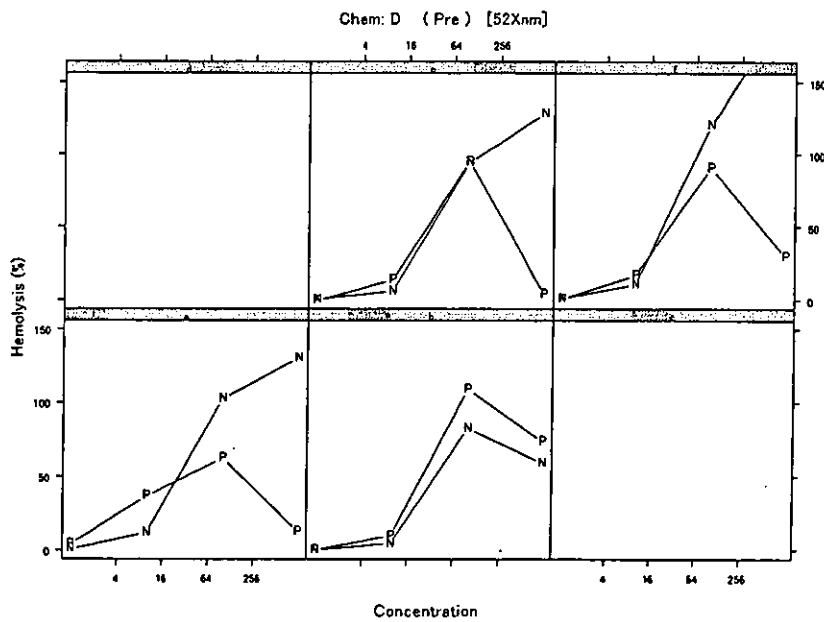


図 7.5.6 物質 C の照射・非照射における溶血度の用量反応関係 (予備試験)



15 図 7.5.7 物質 D の照射・非照射における溶血度の用量反応関係 (本試験)



32 図 7.5.8 物質 D の照射・非照射における溶血度の用量反応関係 (予備試験)

33

34

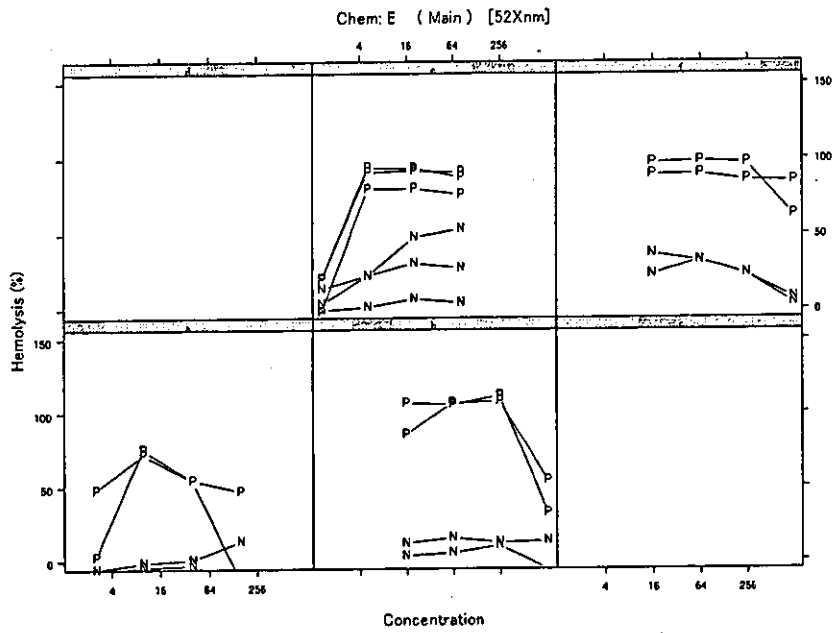


図 7.5.9 物質 E の照射・非照射における溶血度の用量反応関係 (本試験)

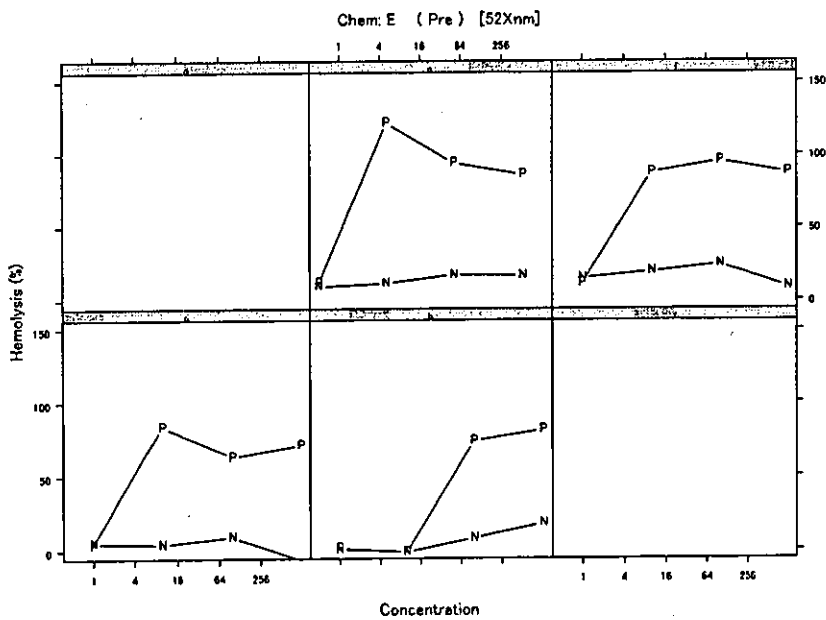


図 7.5.10 物質 E の照射・非照射における溶血度の用量反応関係 (予備試験)

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34

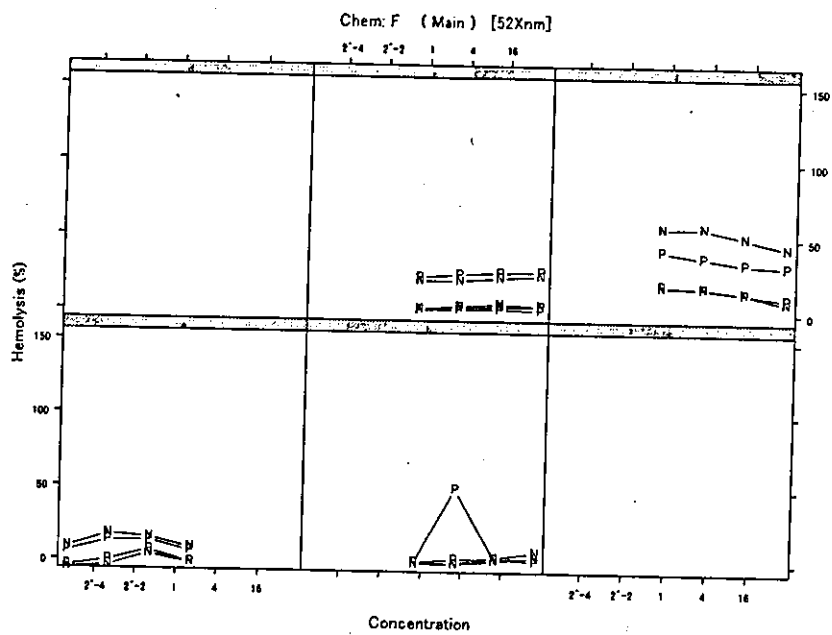


図 7.5.11 物質 F の照射・非照射における溶血度の用量反応関係 (本試験)

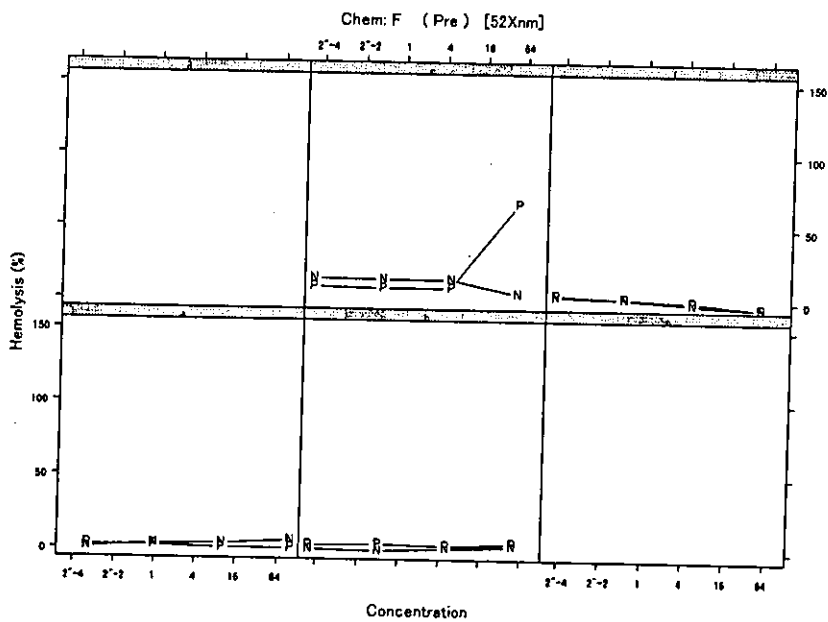


図 7.5.12 物質 F の照射・非照射における溶血度の用量反応関係 (予備試験)

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34

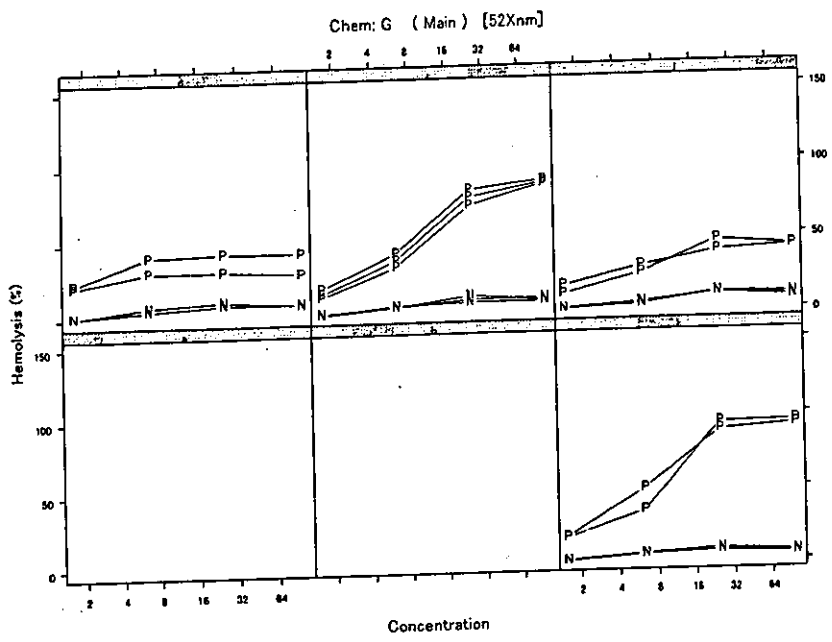


図 7.5.13 物質 G の照射・非照射における溶血度の用量反応関係 (本試験)

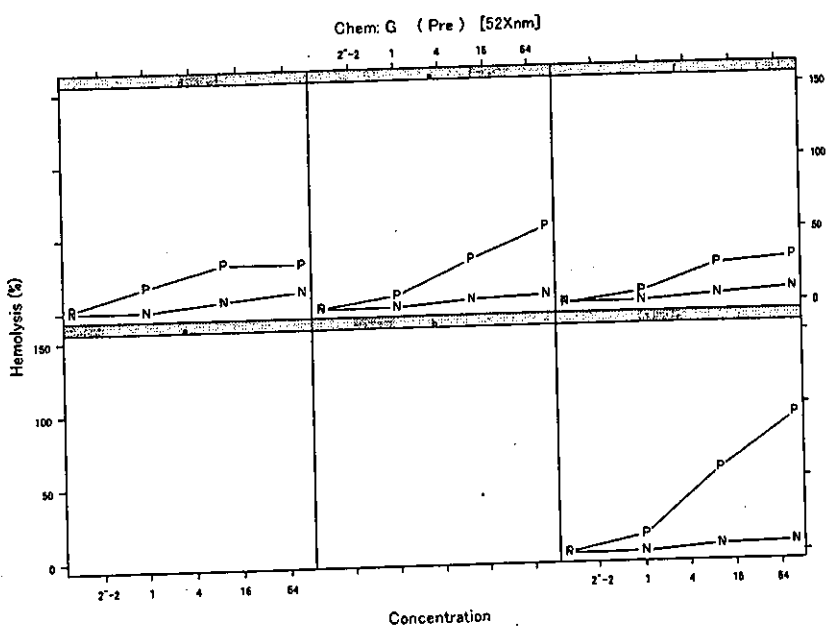


図 7.5.14 物質 G の照射・非照射における溶血度の用量反応関係 (予備試験)

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35

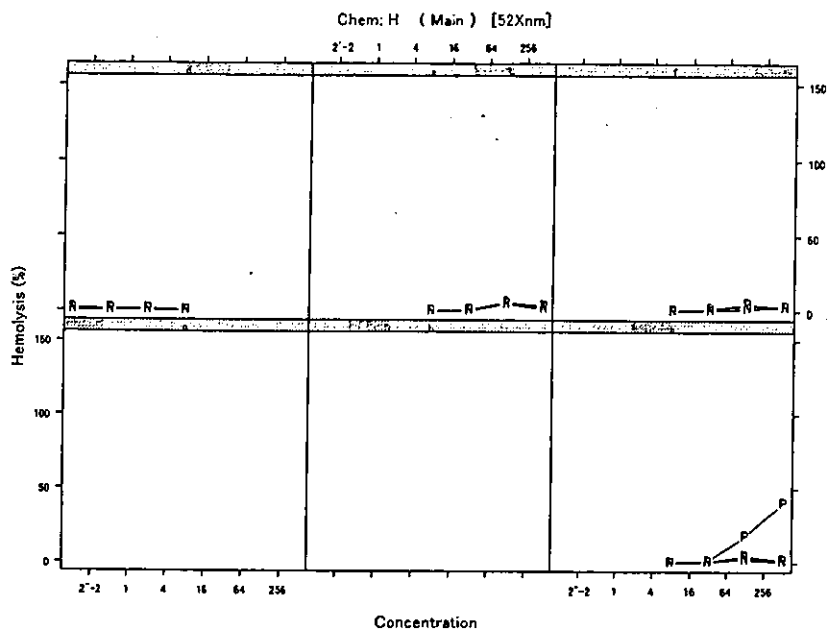


図 7.5.15 物質 H の照射・非照射における溶血度の用量反応関係 (本試験)

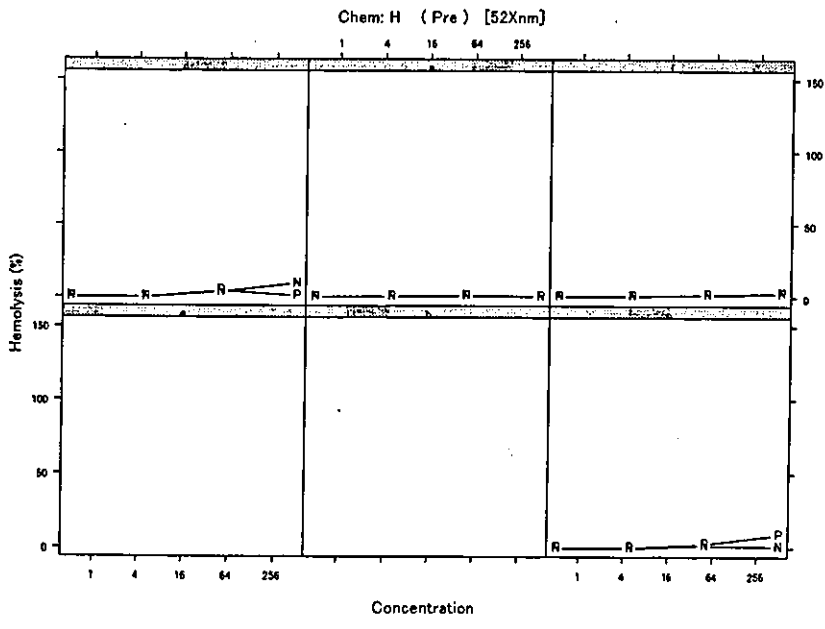
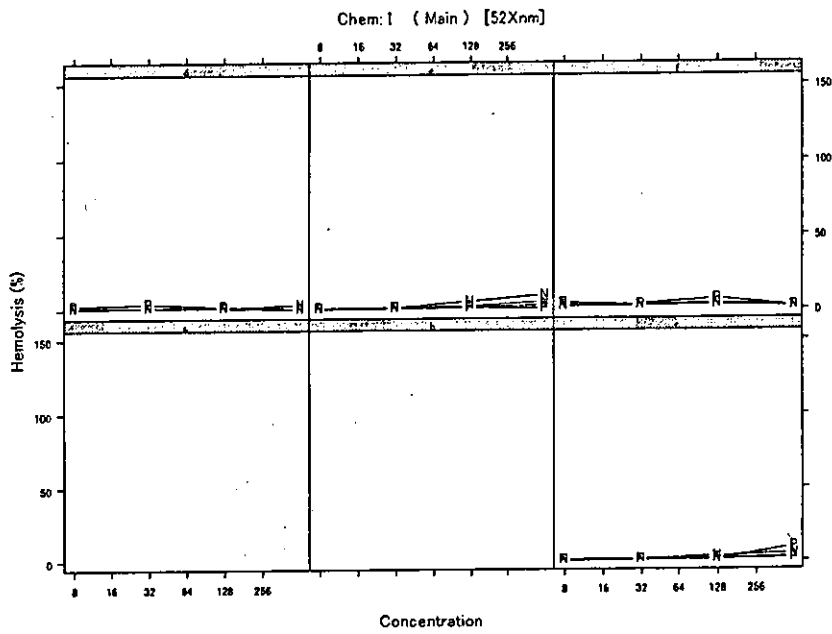
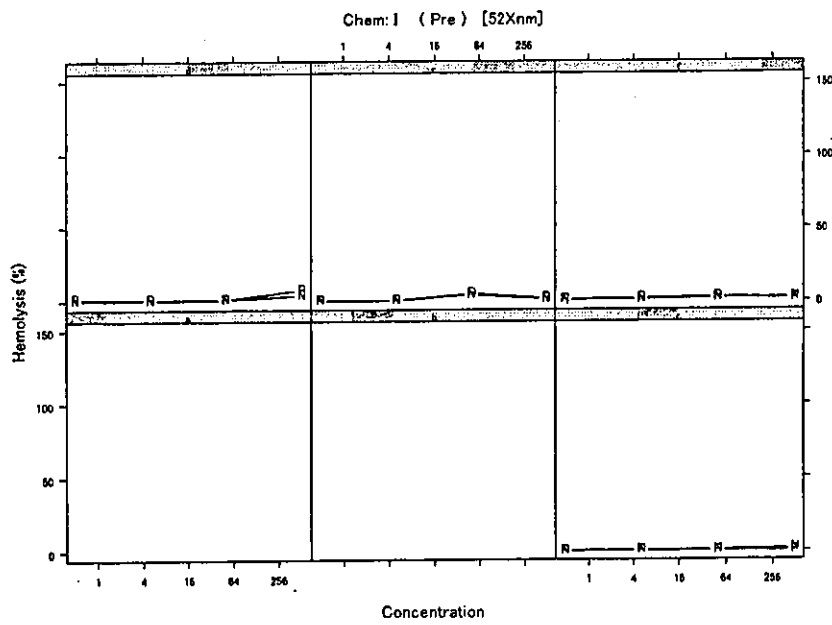


図 7.5.16 物質 H の照射・非照射における溶血度の用量反応関係 (予備試験)



15 図 7.5.17 物質 I の照射・非照射における溶血度の用量反応関係 (本試験)



32 図 7.5.18 物質 I の照射・非照射における溶血度の用量反応関係 (予備試験)

1 酵母光生育阻害試験と赤血球光溶血試験とを
2 組み合わせた光毒性評価バッテリーシステム
3 バリデーション研究

4
5 データ解析報告書 (ver. 1.0)

6
7
8 第8章

9 データ解析結果のまとめ

10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20 2004年5月6日 作成者 大森 崇

8.1. 結果のまとめ

以下に、このデータ解析で得られた結果をまとめる。

(1)施設により陰性と陽性の両方の判定がされた物質は9物質中わずか2物質であった。

2物質は物質B(アミオダロン)と物質F(SLS)である。

物質Bは3施設が陽性反応を示したが、1施設は用量反応関係がみられなかった。

物質Fでは、3施設が陰性と判定し、1施設が陽性と判定した。陽性と判定した1施設内の再現性が低かった。

(2)すべての施設(4施設)で *In vivo* の結果と一致したのは9物質中わずか2物質であった。

グレーゾーンに入る物質が36物質中8物質あった。判定が一致した物質は物質G(アクリジン)と物質I(Parsol 1789)であった。

赤血球光溶血試験を52Xnmとした場合にはグレーゾーンに入る物質は5物質に減り、*In vivo* の結果との一致は物質D(クロルプロマジン)が増え3物質となった。

(3)*In vivo* 試験では陰性の物質がすべての施設(4施設)で陽性と判定された物質が2物質あった。

2物質は物質C(クロルヘキシジン)と物質E(ピチオノール)である。

物質Cは *In vivo* の結果は陰性であったが、バッテリーシステムでは陽性と判定された。酵母光生育阻害試験では用量反応関係が明確ではなかったが、赤血球光溶血試験ではすべての試験で陽性と判定された。

物質EはEU/COLIPAの *In vivo* の結果では陽性と判定されている。

(4)特異度(陰性物質を陰性と判断する割合)は高くなかったが、感度II(陽性物質を陽性もしくは擬陽性と判定する割合)は高かった。

感度IIが高いことは、陽性物質を誤って陰性と判断する可能性が低いことを意味している。この観点からは望ましい結果が得られた。

(5)バッテリーシステムでは赤血球光溶血試験は540nmを用いるよりも525nmを用いた結果の方が若干よい結果となった。

赤血球光溶血試験では540nmの結果に比べて、52Xnmの結果の方が陽性物質をより明確に判定していた。

- 1
2 (6)施設により施設内のばらつきが大きいところもあった。
3 1回目と2回目で用量反応曲線が異なる傾向があった。
4
5 (7)酵母光生育阻害試験では、陽性と判断された物質の指標の値（阻止帯の差）には施
6 設間差がみられた。
7 陽性対照の分布でみられた傾向は、陽性と判断された物質でも同様な傾向がみられた。
8
9 (8)酵母光生育阻害試験は、陽性と判断した物質がない施設が4施設あった。
10 赤血球光溶血試験に比べ、グレーゾーンに入る物質が多かった。
11
12 (9)非照射下で用量の増加に伴い毒性が生じる物質は、施設間差が大きくなる傾向がみ
13 られた。場合によっては判定が困難なものもあった。
14 この傾向は赤血球光溶血試験でより顕著であった。
15
16

酵母光生育阻害試験と赤血球光溶血試験とを
組み合わせた光毒性評価バッテリーシステム
バリデーション研究

データ解析報告書 (ver. 1.0)

付録 A
データクリーニングの手順

2004年5月6日 作成者 大森 崇

A.1. データクリーニングの実施手順

データクリーニングでは、実験実施施設により提出されたデータシートファイルとその入力の元となった資料（紙媒体）のチェックを行い、疑問が生じた場合には実験実施者に問い合わせによる確認をし、必要に応じて訂正を行った。この作業は原則として試験実施施設によりデータが送付された日から1週間以内に行った。なお、試料の提出はデータシートファイルと入力の元となった資料（紙媒体）の両方が揃った時点とした。

データシートファイルのデータ入力欄について以下の項目をチェックした。

- ・ ファイルを開くことができるか
- ・ 紙媒体の試料と内容が一致しているか
- ・ 入力漏れがないか
- ・ 明らかに誤りであると思われる異常な値がないか
- ・ コメント欄の内容は理解できるか
- ・ 2系列のファイルが揃っているか
- ・ 2回以上の本試験結果が得られているか
- ・ 試験番号に矛盾はないか
- ・ 一物質について酵母光生育阻害試験と赤血球光溶血試験のデータが揃っているか
- ・ その他気が付いたことがあるか

A.2. チェックリスト

データクリーニングを効率よく実施するために、作業にはチェックリストを作成した。図 A.2.1～図 A.2.3 にこれを示す。これらのチェックリストへの記入は、消すことが不可能なボールペンで記載した。

別紙 4.2-1

データクリーニングチェックリスト②-1 (本試験用)

□施設：資生堂(a)、東洋ビューティー(b)、マルホ(c)、メナード(d)、食薬(e)、コーセー(f)

| | | | | | | |
|---|----|------------|------------|-------------|------------|------------|
| □ | 酵母 | 本 1 回 1 系列 | 本 1 回 2 系列 | 赤 血 球 | 本 1 回 1 系列 | 本 1 回 2 系列 |
| | | 本 2 回 1 系列 | 本 2 回 2 系列 | | 本 2 回 1 系列 | 本 2 回 2 系列 |
| | | 本 3 回 1 系列 | 本 3 回 2 系列 | | 本 3 回 1 系列 | 本 3 回 2 系列 |
| | | 本 4 回 1 系列 | 本 4 回 2 系列 | | 本 4 回 1 系列 | 本 4 回 2 系列 |
| | | 本 5 回 1 系列 | 本 5 回 2 系列 | | 本 5 回 1 系列 | 本 5 回 2 系列 |
| □ | 酵母 | 本 1 回 1 系列 | 本 1 回 2 系列 | 赤 血 球 | 本 1 回 1 系列 | 本 1 回 2 系列 |
| | | 本 2 回 1 系列 | 本 2 回 2 系列 | | 本 2 回 1 系列 | 本 2 回 2 系列 |
| | | 本 3 回 1 系列 | 本 3 回 2 系列 | | 本 3 回 1 系列 | 本 3 回 2 系列 |
| | | 本 4 回 1 系列 | 本 4 回 2 系列 | | 本 4 回 1 系列 | 本 4 回 2 系列 |
| | | 本 5 回 1 系列 | 本 5 回 2 系列 | | 本 5 回 1 系列 | 本 5 回 2 系列 |
| □ | 酵母 | 本 1 回 1 系列 | 本 1 回 2 系列 | 赤 血 球 | 本 1 回 1 系列 | 本 1 回 2 系列 |
| | | 本 2 回 1 系列 | 本 2 回 2 系列 | | 本 2 回 1 系列 | 本 2 回 2 系列 |
| | | 本 3 回 1 系列 | 本 3 回 2 系列 | | 本 3 回 1 系列 | 本 3 回 2 系列 |
| | | 本 4 回 1 系列 | 本 4 回 2 系列 | | 本 4 回 1 系列 | 本 4 回 2 系列 |
| | | 本 5 回 1 系列 | 本 5 回 2 系列 | | 本 5 回 1 系列 | 本 5 回 2 系列 |
| □ | 酵母 | 本 1 回 1 系列 | 本 1 回 2 系列 | 赤 血 球 | 本 1 回 1 系列 | 本 1 回 2 系列 |
| | | 本 2 回 1 系列 | 本 2 回 2 系列 | | 本 2 回 1 系列 | 本 2 回 2 系列 |
| | | 本 3 回 1 系列 | 本 3 回 2 系列 | | 本 3 回 1 系列 | 本 3 回 2 系列 |
| | | 本 4 回 1 系列 | 本 4 回 2 系列 | | 本 4 回 1 系列 | 本 4 回 2 系列 |
| | | 本 5 回 1 系列 | 本 5 回 2 系列 | | 本 5 回 1 系列 | 本 5 回 2 系列 |
| □ | 酵母 | 本 1 回 1 系列 | 本 1 回 2 系列 | 赤 血 球 | 本 1 回 1 系列 | 本 1 回 2 系列 |
| | | 本 2 回 1 系列 | 本 2 回 2 系列 | | 本 2 回 1 系列 | 本 2 回 2 系列 |
| | | 本 3 回 1 系列 | 本 3 回 2 系列 | | 本 3 回 1 系列 | 本 3 回 2 系列 |
| | | 本 4 回 1 系列 | 本 4 回 2 系列 | | 本 4 回 1 系列 | 本 4 回 2 系列 |
| | | 本 5 回 1 系列 | 本 5 回 2 系列 | | 本 5 回 1 系列 | 本 5 回 2 系列 |
| □ | 酵母 | 本 1 回 1 系列 | 本 1 回 2 系列 | 赤 血 球 | 本 1 回 1 系列 | 本 1 回 2 系列 |
| | | 本 2 回 1 系列 | 本 2 回 2 系列 | | 本 2 回 1 系列 | 本 2 回 2 系列 |
| | | 本 3 回 1 系列 | 本 3 回 2 系列 | | 本 3 回 1 系列 | 本 3 回 2 系列 |
| | | 本 4 回 1 系列 | 本 4 回 2 系列 | | 本 4 回 1 系列 | 本 4 回 2 系列 |
| | | 本 5 回 1 系列 | 本 5 回 2 系列 | | 本 5 回 1 系列 | 本 5 回 2 系列 |

図 A.2.2 チェックリスト 2

別紙 4.3

データクリーニングチェックリスト③ データ訂正用

受付日：2004年 2月、3月、4月 日、 処理日：2004年 2月、3月、4月 日

送付先：資生堂(a)、東洋ビューティー(b)、マルホ(c)、メナード(d)、食薬(e)、コーセー(f)

案件のソース：Fax、e-mail、その他 ()

訂正元ファイル名： _____

旧ファイルの変更：

| | 試験 | 施設 | 物質 | 本予 | 回 | 系列 | OD | 訂正番号 | | |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-------|-------|-----|
| YES | _ a | _ A | _ A | _ A | _ M | _ 1 | _ 1 | _ 540 | _ OLD | _ 1 |
| RBC | _ b | _ B | _ B | _ B | _ P | _ 2 | _ 2 | _ 525 | | _ 2 |
| | _ c | _ C | _ C | _ C | | _ 3 | | _ 530 | | _ 3 |
| | _ d | _ D | _ D | _ D | | _ 4 | | _ 520 | | _ 4 |
| | _ e | _ E | _ E | _ E | | _ 5 | | | | _ 5 |
| | _ f | _ F | _ F | _ F | | _ 6 | | | | _ 6 |
| | | _ G | _ G | _ G | | _ 7 | | | | _ 7 |
| | | _ H | _ H | _ H | | _ 8 | | | | _ 8 |
| | | _ I | _ I | _ I | | _ 9 | | | | _ 9 |
| | | _ X | _ X | _ X | | | | | | |

旧ファイルの変更

新ファイルの保存

図 A.2.3 チェックリスト 3

A.3. 管理用データシートファイルのファイル名のルール

訂正等の作業により不明な点がなくなったデータシートファイルは、データ新たなファイル名を付け、Excel ファイル (.xls) と CSV ファイル (.csv) の2つのファイル形式で保存した。

酵母光生育阻害試験の場合、ファイル名のルールは「試験法コード_施設コード_被験物質コード_本試験予備試験コード試験回数番号_系列番号.拡張子」とした。例えば、施設 a の物質 A の本試験 1 回目の系列 2 の場合「YEA_a_AXX_M1_2.xls」である。

赤血球光溶血試験の場合、ファイル名のルールは「試験法コード_施設コード_被験物質コード_本試験予備試験コード試験回数番号_系列番号_OD 波長値.拡張子」とした。例えば、施設 a の物質 A と物質 B の本試験 1 回目の系列 1 の 525nm の場合「RBC_a_ABX_M1_2_525.xls」である。

試験法コード、被験物質コード、本試験予備試験コード、系列番号、OD 波長値のつけ方を表 A.3.1 に示す。