

ただし、LLNA の普及に当たっては、学会などで技術講習会を行うなどの基本的操作の教育が必要との意見も提案された。

3. 今後の予定について

LLNA を Hazard identification としてのツールに用いることに異論はないが、リスクアセスメントの可否については意見が分かれる。この調査をあり方検討会からも要望されていると小島委員および坂口委員より説明があった。そこで、坂口委員が所有する LLNA を用いたリスクアセスメントの論文等を委員に配布し、この資料をもとに、次回、リスクアセスメントへの利用について議論することになった。

それ以降、ICCVAM の peer review の動向をもとに、日本で開発され、評価が終了する予定である LLNA-DA や LLNA-BrdU についても利用法の注意をまとめることが今後の予定として挙げられた。なお、reduced LLNA は化学物質のスクリーニングに用いる方法であり、本分科会では扱わないことを確認した。

次回委員会は、平成 20 年 4 月 16 日（水）時間未定に国立衛研にて開催されることになった。

以上

医薬部外品の製造販売承認申請における安全性に関する資料のあり方検討委員会
皮膚透過・経皮吸収試験分科会第一回会議議事録

日時：平成19年12月3日（月）15：15-17：00

場所：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 会議室

委員：杉林堅次（城西大学）、藤井まき子（昭和薬科大学）、上月裕一（資生堂）、桑原裕史（カネボウ化粧品）、小島 肇（国立衛研） 以上順不同、敬称略

配布資料：

- 1) 委員リスト
- 2) 厚生労働科学研究 動物実験代替法を用いた安全性評価体制の確立と国際協調に関する研究概要
- 3) 厚生労働科学研究費補助金交付申請書
- 4) 医薬部外品の製造販売承認申請における安全性に関する資料のあり方検討委員会 第一回会議議事録
- 5) 医薬部外品の製造販売承認申請及び化粧品基準改正要請に添付する資料に関する質疑応答集（Q&A）について
- 6) 「化粧品基準の一部を改正する件に関する意見の募集について」に対して寄せられたご意見等について
- 7) ガイドラインの比較（in vitro 経皮吸収試験）
- 8) 日皮協ジャーナル第56号別冊 化学物質が皮膚に触れると、そして化学物質が皮膚に適用されると
- 9) 日本化粧品科学会誌別冊 Vol. 26 No. 3 配合成分の皮内動態制御
- 10) 日本化粧品科学会誌別冊 Vol. 30 No. 4 有効性を発揮させるための剤形構築
- 11) デルマ No. 40 別冊 皮膚と化粧品
- 11) Drug Delivery System Vol. 20 No. 4 別冊 薬物の皮膚表面および皮内からの吸収促進と制御
- 12) Creabeaux No. 42 有効成分の肌への浸透と経皮吸収
- 13) フレグランスジャーナル1月号 化粧品成分の体外と体内からの皮膚への送達
- 14) 薬剤学、67(2)、三次元培養皮膚モデルを用いた薬物の皮膚透過性および皮膚刺激性評価—動物実験代替法確立—

議事

1. 主催者挨拶

主催者の小島委員より、医薬部外品の製造販売承認申請における安全性に関する資料のあり方検討委員会（以後、あり方検討会と記す）経皮吸収試験分科会（仮称）への協力に対するお礼が述べられた。次に各委員が自己紹介を行った。

2. 動物実験代替法の現状と将来

動物実験代替法（以後、代替法と記す）の現状を委員に認識して頂くため、未配布資料である「動物実験代替法の現状と将来」を用いて、小島委員が代替法を巡る国際状況について説明した。

3. 医薬部外品の安全性評価およびあり方検討会の説明

資料1、2および4を用い、小島委員より「あり方検討会」の設立経緯および分科会の設立理由が示された。また、資料3を用い、この検討委員会の出資先である厚生労働科学研究「動物実験代替法を用いた安全性評価体制の確立と国際協調に関する研究」について説明された。以上の説明の中で、医薬部外品の安全性評価を、代替法を用いて評価するためのあり方を検討して頂きたいと依頼された。経皮吸収試験分科会は、当初予定されていなかったが、欧州では経皮吸収試験が重要視されていることもあり、日本化粧品工業連合会からの要望で追加設置されたと説明された。

また、医薬部外品の安全性評価について、資料5に示す「医薬部外品の製造販売承認申請及び化粧品基準改正要請に添付する資料に関する質疑応答集（Q&A）について」を参照されたいと小島委員より説明があった。

4. 分科会の進め方について

以上の情報と上月委員から提出された資料7および杉林委員から提出された資料8～14を用いながら、本分科会のテーマである経皮吸収試験の意義と必要性について意見交換を行った。その内容を列記する。

・経皮吸収試験は、リスク評価および効能評価に極めて有用である。適用範囲は、あくまでも主剤、ポジティブリスト掲載品に絞られる。

- ・ 現行の安全性試験を実施していれば追加で経皮吸収試験を加える必要はない。現行法で毒性は評価されている。
- ・ 反復毒性、生殖毒性あるいは発癌性試験を不要にするなどの試験法の省略が可能であれば、本試験の採用を考慮すべきである。
- ・ ADMEのプレスクリーニングとして、経皮吸収試験である程度以下の吸収量であれば、全身的な毒性は見なくて良いとの考え方もある。これであれば動物数の削減に貢献できる。
- ・ 皮膚を透過した物質が、かならずしも血液に入るとは限らない。ただし、安全域を考えれば、皮膚に入れば全身に行き渡るとの考え方もある。薬剤でも種々のケースがありうる。
- ・ 皮膚透過、皮膚分配と経皮吸収は違う。定義をしっかりとしなければいけない。本分科会の名称も明確にしないと検討内容が曖昧になる。薬局方でも局部剤と経皮吸収製剤で分類が異なる。OECD ガイドラインでも 427 は経皮吸収試験であり、428 は皮膚透過試験である。
- ・ 資料 7 に示す公式なガイドライン (OECD や SCCP) は完成度が高く、詳細な試験法の検討は不要である。
- ・ 皮膚刺激性物質と皮内濃度には高い相関性がある。皮膚透過試験と代替法の組み合わせならリスク評価できるかもしれない。
- ・ ガイドラインやその経緯に関する入手困難な資料を JaCVAM として集めてほしい。

以上の意見をまとめ、分科会の名称を「皮膚透過・経皮吸収試験分科会」にするとともに、以下の内容を主題として今後検討を行うことが確認された。

- ① vivo を vitro で置き換えられるか。
- ② vitro の経皮吸収試験と他の安全性試験の関係
- ③ リスク評価への経皮吸収試験の利用

これらの議論を経て、皮膚透過・経皮吸収試験を考慮に入れた今までよりもすっきりした安全性評価スキーム（ケースバイケースのフォローチャート）の案を作成することが最終目標とされた。

5. 今後の予定

Vitro から vivo への外挿をまず検討するため、vitro と vivo の比較結果の資料を集めることになった。次回までに、杉林委員と藤井委員で医薬品、上月委員と桑原委員で化粧品および医薬部外品の調査を行うことになった。小島委員は、ガイドラインを整理するとともに、入手困難な資料を調査することになった。

次回会議は国立衛研で平成 20 年 2 月 18 日 (月)～29 日 (金) の間で開催することになり、議事録送付時に日程を調整すると小島委員から説明があった。

以上

医薬部外品の製造販売承認申請における安全性に関する資料のあり方検討委員会
皮膚透過・経皮吸収試験分科会第二回会議議事録

日時：平成20年2月25日（月）15：10-17：30

場所：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 会議室

委員：杉林堅次（城西大学）、藤井まき子（昭和薬科大学）、上月裕一（資生堂）、桑原裕史（カネボウ化粧品）、小島 肇（国立衛研） 以上順不同、敬称略

配布資料：

- 1) 先回議事録
- 2) 医薬部外品の製造販売承認申請における安全性に関する資料のあり方検討委員会 第二回会議議事録
- 3) Chapter No. 5: Skin absorption/penetration
- 4) in vitro-in vivo 相関性

議事

1. 先回議事録確認

資料1に示す先回議事録の修正点を確認し、議事録を確定した。

2. In vitro と in vivo の比較について

2-1 化粧品原料

上月委員および桑原委員より、化粧品原料では両結果が揃っているデータを見つけることができなかったと報告された。

2-2 医薬品等

藤井委員より、WHO より 2006 年に発行された Environmental Health Criteria 235 DERMAL ABSORPTION が紹介され、OECD ガイドライン428に基づいて行った in vitro 試験は in vivo 経皮吸収を予測できると記載されていると説明された。

次に、資料4を用いて文献調査結果が報告された。アミノジエーテル、カンナビノイド、シクロスポリン、Flufenamic acid などについて報告された。また、杉林委員からニコランジルについて紹介された。いずれの場合も、W/O では in vitro と in vivo では差がないが、O/W や基剤が異なると合致せず、in vitro の Flux が大きくなると説明された。すなわち、そのような基剤の条件に注意すれば、in vitro と in vivo の結果は一致するか、相関性はあるが in vitro の方が高い値になると説明された。合わない場合には、in vitro の条件が間違っているとされた。ドレイズ試験結果と皮膚への分配は相関しており、成分の皮膚中濃度に注目すべきと説明された。

生物学的同位性試験としての皮膚薬物動態学 (Dermatopharmacokinetics, DPK) 試験について杉林委員から紹介があり、日本のみで採用されている試験であるが、製薬会社によりジェネリック医薬品の申請資料に用いられている。この試験では in vitro と in vivo で結果が異なる。DPK ガイドラインにも細かい手法は記載されていない。日本では四方田先生（国立衛研）が担当されており、今後の簡略化が進む予定であると説明された。

2-3 ガイドライン情報収集

小島委員より、資料3に示す経皮吸収関係の文献リストが提出された。必要に応じて配布すると説明された。

3. 分科会の進め方について

資料2に示すように、あり方検討会において in vitro 経皮吸収試験の検討に否定的な意見がでていと小島委員より説明され、これを受け今後の進め方について議論した。

小島委員から経皮吸収分科会の提案は化粧品工業会からあったものであり、資料1に示す経皮吸収試験で他の試験が省略できるとの見解も業界側の意見であると説明され、まず、業界側の意見を統一してほしいと依頼があった。医薬部外品のガイドブックの例には吸収・分布・代謝・排泄試験 (ADME) が記載されているが、in vivo 経皮吸収試験とは書かれていない。記載されていない試験を in vitro に置き換える検討が必要かと質問された。

杉林委員からも、全身毒性と皮膚透過性は分けて考えるように要望が出された。藤井委員や杉林委員から、全身毒性を評価する ADME や反復経皮毒性試験を代替する目的で、皮膚透過性と一般毒性試験（静注による反復投与毒性試験など）を組み合わせるなどのフローチャートの作成提案があった。それにより、reduction

や refinement を計らなければ 3Rs の促進にならないし、安全性評価方法も簡略化されないとの意見が出された。

これに対して、上月委員および桑原委員より、フローチャートは不要であり、in vivo 経皮吸収試験を in vitro に置き換える場合の利点と注意点を列記するに留めたいとの意見が出された。その理由として、in vitro が in vivo を反映していない場合に間違った判断をしてしまう可能性があるとの意見が示された。小島委員より、それを科学的に検証するためにこの分科会があるのであり、基本的には in vitro に疑陽性が多いとの小島委員の見解は藤井先生も杉林先生からも賛同が得られた。in vitro の皮膚透過性試験の検討を進める必要性を論理的に業界としてまとめてほしいと依頼された。

in vitro と in vivo の比較といっても、in vitro 皮膚透過性試験では皮膚中の残存量を測定し、in vivo 経皮吸収として血中濃度を測定する試験結果では比較にならない。杉林先生が検討しているような in vitro と in vivo の皮膚透過性試験で比較すべきであると小島委員より提案がなされた。

5. 今後の予定

次回会議は国立衛研で、平成 20 年 4 月 15 日 (月) 15 時より開催されることになった。次回までに業界側の見解を論理的に明らかにすること、上月委員および桑原委員で in vitro 皮膚透過性試験の利点と注意点をガイドラインの抜粋でまとめることが宿題となった。また、次回会議では、杉林委員から in vitro と in vivo 皮膚透過性実験結果の報告を受けることになった。

以上

医薬部外品の製造販売承認申請における安全性に関する資料のあり方検討委員会
眼刺激性分科会第一回会議議事録

日時：平成19年10月15日（月）18：00-20：00

場所：名古屋 名駅 IMAIビル8階 H会議室

委員：平野（藤田保健衛生大学）、金子（国立衛研）、畠（J-TEC）、萩野（資生堂）、瀬戸（P&G）、小島（国立衛研）
以上順不同、敬称略

配布資料：

- 1) 委員リスト
- 2) 厚生労働科学研究 動物実験代替法を用いた安全性評価体制の確立と国際協調に関する研究概要
- 3) 厚生労働科学研究費補助金交付申請書
- 4) 医薬部外品の製造販売承認申請における安全性に関する資料のあり方検討委員会 第一回会議議事録
- 5) 医薬部外品の製造販売承認申請及び化粧品基準改正要請に添付する資料に関する質疑応答集（Q&A）について
- 6) 「化粧品基準の一部を改正する件に関する意見の募集について」に対して寄せられたご意見等について
- 7) 辻専門官コメント

議事

1. 主催者挨拶および出席者自己紹介

主催者として小島委員から、医薬部外品の製造販売承認申請における安全性に関する資料のあり方検討会（以後、あり方検討会と記す）・眼刺激性分科会への協力に対してお礼が述べられた。次に全員が自己紹介を行った。

2. 医薬部外品の安全性評価と動物実験代替法を用いた安全性評価体制の確立と国際協調について

資料2および4を用いて、あり方検討会の目的、分科会の必要性および構成について小島委員が説明するとともに、資料1を用いて委員のメンバーが紹介された。

次に、配布資料5および6を用いて医薬部外品(薬用化粧品)の申請承認の現状、動物愛護への配慮などについて小島委員が説明した。

3. 動物実験代替法の現状と将来

小島委員より、動物実験代替法（以後、代替法と記す）に関する国内外の現状（未配布資料）について説明された。以上の説明後、質疑応答が行われた。まず、萩野委員より、医薬部外品制度の今後の存続性について質問がなされた。これに対し、小島委員は本制度が存続することを前提に対処してほしいと説明された。厚生労働省の担当官からは、今の制度に代替法を組み入れた場合のあり方を検討する要望を聞いている。仮に、医薬部外品の中の薬用化粧品が無くなったとしても、この検討は化粧品の安全性評価をする場合に必要であり、無駄な議論にはならないとの考えが小島委員より示された。医薬部外品の範囲についても質問があったが、資料7に示す外用剤であると説明された。次に、瀬戸委員より、欧米では動物実験が難しい状況である。是非代替法にて申請結果の受入れをお願いしたいとされ、その代替法がドレイズ試験と同等か、越えなければいけないのかと問われた。小島委員からは動物実験から得られるデータは多岐にわたり、越えられないと考えるとされた。これに関連し平野委員より、点眼剤の安全性評価の現状から、in vitro 試験で動物では見られない細胞接着因子の挙動、バリア機能の損傷や薬物の眼内移行も実際に行われており、目的が明確であれば越えることは可能、in vitro は利用しやすいと試験法の紹介がなされた。

畠委員より、この分科会の目的として、眼刺激性の評価なのか、代替法の利用かどちらかとの質問がなされ、小島委員より前者であり、安全性担保のために科学的な進歩を加味して、眼刺激とは何かという議論から試験法を見直してもよいと考えるとされた。また、平野委員および畠委員よりウサギ角膜を用いた以前の検討ではアルカリ混濁に対して強い抵抗性を確認している。ウサギの眼では疾患が作りにくいことを経験しているとされ、ヒトに比べてウサギは強いと感じているとの所感が述べられた。これに対して金子委員より、これまでの眼刺激性試験の経験ではウサギは感受性が高いと感じているとの反対意見も出された。小島委員より、今後データを持ち寄り、これらの検証もお願いしたいとされた。さらに金子委員より、ドレイズ試験は強度の角膜損傷評価のために必要十分条件を満たしている、そのために使われてきた長所に加え、客観性がないという短所も紹介された。

萩野委員より、眼刺激性試験代替法のガイダンス案発行後の in vitro 申請資料の公開の可能性について質問を受けたが、資料 7 に示すもののみであると小島委員が説明した。

4. あり方検討会の説明および分科会の進め方について

まず情報の共有化を進めることが必要と小島委員から説明がなされ、次回、これまでの厚生労働科学研究における動物実験代替法への取り組みやドレイズ試験の解釈などの動向について、萩野委員および金子委員より説明を頂くことになった。平成 19 年 12 月 12 日(水) 16 時より、名古屋の今回と同じ会議室にて第 2 回会議を開催することが決まった。

以上

医薬部外品の製造販売承認申請における安全性に関する資料のあり方検討委員会
眼刺激性分科会第二回会議議事録

日時：平成19年12月12日（水）16：00-18：30

場所：名古屋 名駅 IMAIビル8階 H会議室

委員：平野（藤田保健衛生大学）、金子（国立衛研）、島（J-TEC）、萩野（資生堂）、瀬戸（P&G）、小島（国立衛研）
以上順不同、敬称略

配布資料：

- 1) 萩野委員発表資料 眼刺激性試験代替法開発のこれまでの流れ
- 2) 培養細胞を用いた眼刺激性試験代替法について、最新 動物実験代替法、pp. 86-103.
- 3) 化粧品の安全評価に関する指針、安全性評価に関する指針 2001、pp. 1-33
- 4) 承認申請の際の添付資料、化粧品・医薬部外品 製造販売ガイドブック 2006 pp. 131-148
- 5) 代替法を組み込んだ化粧品の眼刺激性評価ガイダンス案について、フレグランスジャーナル 1999-7, 21-34.
- 6) Interlaboratory Validation of the in Vitro Eye Irritation Test for Cosmetic Ingredients. (I) Overview of the Validation Study and Draize Scores for the Evaluation of the Test, Toxicology in Vitro, 13, 73-98 (1999)

議事

1. 先回議事録確認

資料として配布されなかったが、萩野委員からの修正依頼を受け、最終版を作成したと小島委員より説明された。

2. 眼刺激性試験代替法開発のこれまでの流れ

萩野委員より、配布資料1を用いて、「眼刺激性試験代替法開発のこれまでの流れ」が説明された。約70枚のスライドを用いて講演された。なお、資料2～6は補足資料として小島委員より配布された。

発表後の質疑応答を以下に示す。

1) 試験方法について

- ・ 洗眼の目的は？ 動物愛護からみた眼刺激性の軽減化および洗い流しによる影響を確認し、より現実に近い評価を行うためであると考えますが、成文化されているかどうか確認したい（萩野）。
- ・ 洗眼のために別の実験系を起こすのか？ 医薬部外品の薬事申請に用いる試験法の記述に「眼刺激性を示す物質は点眼後に洗眼を行う」とあるので、眼刺激性のあることが十分予測される場合あるいは眼刺激性のあることを試験で確認した場合、洗眼による軽減を確認するための試験を行うことになる。別の試験を起こす可能性はあるといえる（萩野）。

2) データベースについて

- ・ 厚生科学研究のバリデーションにおいて比較に用いた *in vivo* データは、このバリデーションのためにすべて取り直した（金子）。
- ・ 化粧品の眼刺激性評価ガイダンス案発表後のデータ収集については、企業からの申請データが少なく、データベースを構築するための物質数は少ないと考えられる。申請結果は陰性が多く、有益なデータベースにつながることも明らかである。現存するデータを収集し、データベースを構築する事は必要であると思うが、項目の選定など慎重にすべきと考えている（小島）。
- ・ 現在の日本の化粧品の眼刺激性評価ガイダンス案が普及しない理由として、日本の厚生科学研究・眼刺激性試験代替法バリデーションの *in vivo* データは主に10%水溶液であり、10%水溶液の眼刺激性を代替法で予測する検討が行われてきたが、欧米は物質原体の注意表示を目的とし、原体の眼刺激性の予測が行われているという違いが挙げられる。原体の眼刺激性の有無を予測できることが代替法として、まず必要な条件ではないかという考え方がある。このギャップから欧米では日本のバリデーション研究を重要に考えていないと思われる（小島）。
- ・ 医薬部外品主剤や positive list 収載物質を評価するためには、化学物質の100%濃度における眼刺激性データを集めなければならないと考える（小島）。
- ・ 3次元培養真皮モデルを用いる物質原体の評価は偽陽性が多いことがわかっている。（萩野）真皮モデルでは角膜がないからではないか。薄くても角膜は必要と考える。（小島）

3) ウサギとヒトの感受性

- ・ ヒトに比べてウサギの角膜は薄く、感受性が高い（金子）。ウサギの角膜障害モデルでの検討によれば、ヒトがウサギより感受性が高い。ウサギの回復力は早い（平野）。ウサギの角膜はヒトよりも薄いので、感受性が高いとの先入観がある（平野・畠）。反応性は物質により異なり、成書（動物種差と外挿、ソフトサイエンス社）によるとウサギの方が反応性が強い物質とヒトの方が反応性が強い物質がある。全般的に見てウサギの目はヒトの眼よりも高感受性であるという結論になっている（萩野）。
- ・ 化学物質適用後の瞬目や涙など *in vivo* の動態は複雑である。*In vivo* と *in vitro* の相関がよい点は不思議な気がする（平野）。実質まで及ばない表面のみの細胞障害であるためか（畠）。細胞毒性は弱いですが、透過性が高く実質障害を起こす物質がないと判断できない（畠）。

4) 代替法の進捗について

- ・ 欧州の動向把握の機会がある（瀬戸）。是非、次回に報告してほしい（小島）。

3. 今後の予定

次回、角膜障害や痛みについて平野委員、欧州の情報収集について瀬戸委員から説明を頂くことになった。平成20年2月13日(水)16時より、名古屋の今回と同じ会議室にて第3回会議を開催することが決まった。

以上

医薬部外品の製造販売承認申請における安全性に関する資料のあり方検討委員会
眼刺激性分科会第三回会議議事録

日時：平成20年2月13日（水）16：00-18：30

場所：名古屋 名駅 IMAIビル8階 H会議室

委員：平野（藤田保健衛生大学）、畠（J-TEC）、萩野（資生堂）、瀬戸（P&G）、小島（国立衛研）
以上順不同、敬称略

配布資料：

- 1) 第二回会議議事録
- 2) 瀬戸委員発表データ 動物代替法の国際動向概要 米国・欧州
- 3) 眼刺激 in vitro 法の開発：欧州化粧品工業会における活動の最新情報
- 4) P&G ACTIVES RISK COMMUNICATION
- 5) あり方検討委員会第二回会議議事録

議事

1. 先回議事録確認

萩野委員からの修正依頼を受け、資料1に示すように第2回議事録の最終版を作成したと小島委員より説明された。

また、萩野委員より、先回の宿題として眼刺激性試験における洗浄の目的に関する文書を調査した結果が紹介された。平成2年4月に提出された「新化粧品等安全性評価指針班報告書」（班長黒川雄二先生）の中に「洗浄は損傷性がある場合にどのような方法によって障害を除去し、軽減させるかを探ることを目的とする方法の一つである。したがって、原料に損傷性のない場合には、洗浄の必要はない。」という記載がある。また、株式会社地人書館が平成2年1月15日に発行した「毒性試験講座7 機能毒性学」（責任編集福原武彦、小野宏）の291ページに「試料適用2秒後あるいは4秒後に洗眼処置を行うことは、ヒトにおいて不測のケースが起こったときには非現実的である、という批判があり、20～30秒、60秒、5分あるいは1日後の洗眼処置も提唱されている。」という記載があるとのことであった。

2. 欧米の動向について

米国および欧州の代替法専門機関の組織と眼刺激性代替法に係る動向、欧州の法規制などについて瀬戸委員より、資料2を用いて説明がなされた。また、参考資料としてP&Gの社内資料が配布された（配布資料3および4）眼刺激性試験代替法としては、摘出角膜試験や摘出眼球試験を用いた強刺激性のスクリーニングのみが欧米で認証されているという状況について説明された。

質疑応答において、ECVAMで検討されている培養細胞試験やヒト角膜モデルのバリデーション研究についてさらに追跡調査が依頼された。また、動物を用いたLow volume法の進捗についても情報収集が依頼された。

3. 角膜障害や痛みについて

平野委員より、角膜障害や痛みについて紹介がなされた（資料は後日に送付予定）。眼球の構造から、障害の分類、知覚の種類と作用機作について説明された。薬物による眼障害は細胞毒性とバリエーションに大別されると説明された。

4. 今後の予定

小島委員より、あり方検討会から分科会活動の方向性に関する要望（配布資料5）が示されたこととされ、日本の細胞毒性試験を中心に特長や使用上の注意点をまとめてほしいと説明があった。これを進める前に、ドレイズ試験を再評価（ドレイズ試験結果をどう評価するか）する必要があると畠委員から提言があり、次の会議において畠委員の推薦する獣医の眼科専門医を招待して講演をお願いするとともに、厚生科学研究バリデーションの際に行ったin vivo眼刺激性試験の諸情報を萩野委員が報告し、in vivo眼刺激性の理解をより深めることになった。また、厚生科学研究バリデーション時のin vivo眼刺激性メカニズムについての検討が記載された記録等が国立医薬品食品衛生研究所に残っているか否かを小島委員が確認することになった。

これらの知識を基に、以降、医薬部外品の安全性評価のため、細胞毒性試験だけでなく、国際的にバリデーションや評価が終了した動物実験代替法の特長や使用上の注意点をまとめることが確認された。

次回の会議予定は未定である。

以上

医薬部外品の製造販売承認申請における安全性に関する資料のあり方検討委員会
光関連毒性試験分科会第一回会議議事録

日時：平成19年12月5日（水）15：00-16：30

場所：国立医薬品食品衛生研究所 第二会議室

委員：上出良一（東京慈恵会医科大学）、田中憲穂（食薬センター）、森辰実（ノエビア）、今井教安（コーセー）、小島 肇（国立衛研） 以上順不同、敬称略

配布資料：

- 1) 委員リスト
- 2) 厚生労働科学研究 動物実験代替法を用いた安全性評価体制の確立と国際協調に関する研究概要
- 3) 厚生労働科学研究費補助金交付申請書
- 4) 医薬部外品の製造販売承認申請における安全性に関する資料のあり方検討委員会 第一回会議議事録
- 5) 医薬部外品の製造販売承認申請及び化粧品基準改正要請に添付する資料に関する質疑応答集（Q&A）について
- 6) 「化粧品基準の一部を改正する件に関する意見の募集について」に対して寄せられたご意見等について

議事

1. 主催者挨拶

主催者の小島委員より、医薬部外品の製造販売承認申請における安全性に関する資料のあり方検討委員会（以後、あり方検討会と記す）光毒性試験分科会（仮称）への協力に対するお礼が述べられた。次に各委員が自己紹介を行った。

2. 動物実験代替法の現状と将来

動物実験代替法（以後、代替法と記す）の現状を委員に認識して頂くため、未配布資料である「動物実験代替法の現状と将来」を用いて、小島委員が代替法を巡る国際状況について説明した。

3. 医薬部外品の安全性評価およびあり方検討会の説明

資料1、2および4を用い、小島委員より「あり方検討会」の設立経緯および分科会の設立理由が示された。また、資料3を用い、この検討委員会の出資先である厚生労働科学研究「動物実験代替法を用いた安全性評価体制の確立と国際協調に関する研究」について説明された。以上の説明の中で、医薬部外品の安全性評価を、代替法を用いて評価するためのあり方を検討して頂きたいと依頼された。

また、医薬部外品の安全性評価について、資料5に示す「医薬部外品の製造販売承認申請及び化粧品基準改正要請に添付する資料に関する質疑応答集（Q&A）について」を参照されたいと小島委員より説明があった。

4. 分科会の進め方について

本分科会のテーマである光毒性試験の意義と必要性について意見交換、質疑応答を行った。その内容を列記する。

- ・本分科会の検討範囲はどこまでか。 →光毒性、光感作性を想定していた。
- ・光遺伝毒性試験も検討範囲とすべきである。 →了解した。誤解を生む可能性もあるので、分科会の名称を光毒性でなく、光関連毒性としたほうがよいかも知れない。
- ・これらの試験は刺激性、感作性、変異原性との関連が深い。それぞれの分科会があるならば、そちらで議論してはどうか。 →光関連試験の一番の特長は光源である。光源や試験条件などの部分で議論して頂き、その他の部分は必要なら各分科会と合同で会議を開催してもよいと考えている。
- ・光感作性試験は代替法がない。議論は必要か？ →代替法は公定化されているものを議論の対象とするので、光感作性試験代替法の資料は対象とならない。ただし、仮に動物実験を残すとしても Reduction や Refinement を考慮した提言が必要と考えている。
- ・適用すべき範囲は、化粧品、医薬部外品か？光関連毒性は医薬品ともつながりが深い。医薬品の安全性も考慮して議論を深めて頂きたい。
- ・分科会とあり方検討会のつながりは？ →分科会で各試験法の詳細な検討やストラテジー案を作成し、それらの資料をもとに医薬部外品の総合的な安全性評価のあり方が検討される予定である。よって、2年間の検討期間の内、最後の1年はあり方検討会との合同会議も想定している。
- ・代替法を推し進めようという欧米の主張の発端は何か？ →政治的、哲学的な問題が発端である。ただ、

昨今は REACH の問題も絡み、経済的にも影響が大きくなってきている。

5. 今後の予定

委員間のコンセンサスを深めるため、共通の情報を持って議論すべきとの意見があった。そこで、各自の専門範囲について次回の会議で報告を行うことになった。分担を以下に示す。

臨床：上出委員、

光遺伝毒性：田中委員

光毒性：今井委員

光感作性：森委員

小島委員：現行ガイドライン、国際情報

次回会議は、国立衛研で平成 20 年 2 月 14 日 (金) に開催することとなった。

以上

医薬部外品の製造販売承認申請における安全性に関する資料のあり方検討委員会
光関連毒性試験分科会第二回会議議事録

日時：平成20年2月14日（木）13:00-15:00

場所：国立医薬品食品衛生研究所 センター会議室

委員：上出良一（東京慈恵会医科大学）、田中憲徳（食薬センター）、森辰実（ノエビア）、今井教安（コーセー）、小島 肇（国立衛研） 以上順不同、敬称略

配布資料：

- 1) In vitro 3T3 NRU Phototoxicity
- 2) 平成19年度班会議総会プログラム
- 3) OECD Guideline for Testing of Chemicals 432, In vitro 3T3 NTU phototoxicity test
- 4) 医薬部外品の製造販売承認申請における安全性に関する資料のあり方検討委員会 第二回会議議事録
- 5) 医薬部外品の製造販売承認申請における安全性に関する資料のあり方検討委員会 光関連毒性試験分科会第一回会議議事録(案)
- 6) 化粧品の安全性評価に関する指針 2001
- 7) 化粧品・医薬部外品 製造販売ガイドブック 2006
- 8) Peer Review と Regulatory acceptance
- 9) UV-induced Effects, ATLA, 33 supp. 1, 131-146 (2005)
- 10-14) 田中先生より光遺伝毒性文献

議事

1. 先回議事録確認

各委員からの修正依頼を受け、資料5に示すように、最終版を作成したと小島委員より説明された。

2. 専門範囲報告

1) 上出委員

臨床の立場からの報告として、PPT 原稿(配布資料なし)を用いて光毒性の作用機作、臨床例などが紹介された。質疑応答にて、光毒性のある薬剤は治験で脱落することから、昨今は光毒性物質を臨床で見つけることは多くなく、むしろケトプロフェンのような光アレルギー性物質による患者が多いとの見解が示された。

2) 田中委員

資料10-14に示す光遺伝毒性に関する自身の論文が配布され、1990年代よりこの関係の論文は増えており、ICH(医薬品の国際規制会議)でもワーキンググループで光照射条件が設定されたと説明された。また、欧米のガイダンスにもこの方法が掲載されていると紹介された。

質疑応答において、1) in vivo 結果が不足しており、被験物質や濃度の選定が難しい、2) 光遺伝毒性試験に関しては注目されている試験法はない、3) 昔に比べてニューロキノンなどの医薬品が限定して使われているなどの現状が紹介された。

3) 今井委員

光毒性試験代替法の現状について資料9およびPPT原稿(配布資料なし)を用いて紹介された。すでにOECDガイドラインとなっているIn vitro 3T3 NRU Phototoxicity(資料3)に加え、欧米で検討されている赤血球試験やヒト培養皮膚モデルの現状について紹介された。日本でも資生堂の提案した酵母-赤血球試験のバリデーションが終了していると説明された。

4) 森委員

光感作性試験の現状についてPPT原稿(配布資料なし)を用いて紹介された。バリデーションが済んでいる試験法はないとされ、日本における戸倉先生(産業衛生大学)の検討項目が紹介された。小島委員より、欧米で過去に検討された報告があるとの意見が示され、継続した調査依頼がなされた。

5) 小島委員

既存の規制資料として資料3、6および7が配布された。また、昨秋ブリュッセルで開催されたEPAA(欧州動物実験代替法パートナーシップ)でJ&Jから発表されたIn vitro 3T3 NRU Phototoxicityの利用方法に関する発表原稿(資料1)や井上班で検討されている医薬品における光毒性試験に関するガイドラインの策定(資料2)など、光毒性試験を巡る昨今の国際動向について説明された。

3. 今後の進捗について

小島委員より、あり方検討会から分科会活動の方向性として、In vitro 3T3 NRU Phototoxicityに限定して特長や使用上の注意をまとめるような要望（資料 4）が示されていると説明された。また、本分科会の仕事は資料 8 に示す試験法を第三者評価する peer review でなく、その後の regulatory acceptance にあたり、医薬部外品の許認可に代替法がどのように使えるかを見極めることにあると説明された。これを受け、今後の進め方について議論した結果、以下の方針が決まった。

① 今井委員の作成した試験法の長短所をベースに、化粧品における In vitro 3T3 NRU Phototoxicity の特長や使用上の注意についてまとめる。

以前、第三者評価された In vitro 3T3 NRU Phototoxicity の報告書を JaCVAM から各委員に配布して次回までに内容を把握してくる。

② 年内にバリデーションや評価が終了するとされているヒト培養皮膚モデルや酵母－赤血球試験についても In vitro 3T3 NRU Phototoxicity の評価終了後に検討する。

③ 光遺伝毒性、光感作性については今後も調査を続け、状況を報告書にまとめる。

次回会議は、国立衛研で平成 20 年 5 月 22 日（木）15 時から開催することとなった。

以上

医薬部外品の製造販売承認申請における安全性に関する資料のあり方検討委員会
遺伝毒性試験分科会第一回会議議事録(案)

日時：平成19年12月11日(火) 15:00-17:00

場所：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 会議室

委員：林 真(国立衛研)、能美健彦(国立衛研)、笠松俊夫(花王)、江幡真也(ライオン)、小島 肇(国立衛研) 以上順不同、敬称略

配布資料：

- 1) 委員リスト
- 2) 厚生労働科学研究 動物実験代替法を用いた安全性評価体制の確立と国際協調に関する研究概要
- 3) 厚生労働科学研究費補助金交付申請書
- 4) 医薬部外品の製造販売承認申請における安全性に関する資料のあり方検討委員会 第一回会議議事録
- 5) 医薬部外品の製造販売承認申請及び化粧品基準改正要請に添付する資料に関する質疑応答集(Q&A)について
- 6) 「化粧品基準の一部を改正する件に関する意見の募集について」に対して寄せられたご意見等について
- 7) 医薬部外品の許可と承認 承認申請の際の添付資料「化粧品 医薬部外品 製造販売ガイドブック 2006」薬事日報社
- 8) 化粧品の安全性評価に関する指針 「安全性評価に関する指針 2001」薬事日報社
- 9) 部外品のあり方検討会 遺伝毒性WG資料 花王(株)笠松俊夫
- 10) THE SCCP'S NOTES OF GUIDANCE FOR THE TESTING OF COSMETIC INGREDIENTS AND THEIR SAFETY EVALUATION 6th REVISION

議事

1. 主催者挨拶

主催者の小島委員より、医薬部外品の製造販売承認申請における安全性に関する資料のあり方検討委員会(以後、あり方検討会と記す)遺伝毒性試験分科会(仮称)への協力に対するお礼が述べられた。

2. 医薬部外品の安全性評価およびあり方検討会の説明

資料1~4を用い、小島委員より「あり方検討会」の設立経緯および分科会の設立理由が示された。以上の説明の中で、医薬部外品の安全性を、代替法を用いて評価するためのあり方を遺伝毒性の面から検討して頂きたいと依頼された。遺伝毒性試験分科会は当初予定されていなかったが、日本化粧品工業連合会からの要望で追加設置されたと説明された。

また、資料5~8に示す資料は化粧品および医薬部外品の安全性試験方法の紹介であり、必要に応じて参照されたいと小島委員より説明があった。

3. 化粧品分野における遺伝毒性試験の現状について

笠松委員から提出された資料9および資料10を用いながら、本分科会のテーマである化粧品分野における遺伝毒性試験の現状について説明がなされ、意見交換が行われた。その内容を列記する。

- ・ 2009年より、遺伝毒性のin vivo試験を行った化粧品を欧州で販売できなくなると予想される。in vitro試験は特異度が低く(偽陽性が多い)、in vivo試験を行わない場合は過大評価する可能性がある。
- ・ ICHではin vivo試験結果にウェイトを置いた内容になっており、in vitro試験は作用機構の解明等にも使われる内容となっている。医薬品の特徴を生かしたバッテリーとなっている。
- ・ OECDガイドラインは試験法の羅列であり、戦略的な発想はない。ただし、今後、ICHの影響をOECDも受ける可能性はある。
- ・ 医薬部外品の遺伝毒性試験は医薬品に準拠している。これはin vitro試験に依存しようとしているEUとの間のギャップで、実験・評価を行う立場として危機感を持っている。
- ・ 欧州の情報収集が不足している。COLIPAやSCCPには遺伝毒性の専門家が少なく、試験法の選択にも疑問を感じている。
- ・ 試験法の技術的な面に障壁はないと考えている。In vitro小核試験が問題として提起されたが、ICHで取り上げることが決まっており、今後は問題ないものと考えられた。
- ・ International Cooperation on Cosmetics Regulation(ICCR)における遺伝毒性の意見交換を希望する。
- ・ ICCRでの議論がICHに準じて進むことを期待している。(笠松)
- ・ in vivo試験が陽性でも経皮吸収しなければ安全性上、問題はない。そのようなデータが揃えられるか。

- ・ in vitro 試験が陽性である場合、その原料を使用するのかの企業の考え方を知りたい。
これらの議論を経て、「in vitro 試験のみで遺伝毒性の評価は可能か」「2009 年以降、どのような問題がおきるのか、具体的な影響は？」をシュミレーションすることが提案され、了承された。

4. 今後の予定

次回までに、笠松委員が COLIPA の見解、江幡委員が化粧品工業会傘下会員に対して in vitro 試験で陽性、in vivo で陰性であった物質数等について調査を行い、現状を把握することになった。

次回は、国立衛研で平成 20 年 3 月 10 日 14 時～17 時に開催することを決定した。

以上

医薬部外品の製造販売承認申請における安全性に関する資料のあり方検討委員会
遺伝毒性分科会第二回会議議事録

日時：平成20年3月10日（月）14：00-16：00

場所：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 会議室

委員：林 真（国立衛研）、能美健彦（国立衛研）、本間正充（国立衛研）、笠松俊夫（花王）、江幡真也（ライオン）、小島 肇（国立衛研） 以上順不同、敬称略

配布資料：

- 1) 第一回議事録
- 2) 医薬部外品の製造販売承認申請における安全性に関する資料のあり方検討委員会 第二回会議議事録
- 3) 班会議資料
- 4) JaCVAM ワークショップ

議事

1. 先回議事録確認

資料1をもとに、先回議事録を確認した。「偽陽性」の記載などが修正された。

2. あり方検討会の要望および分科会の進め方について

資料2を用い、あり方検討委員会から遺伝毒性分科会への要望について、小島委員より説明があった。

in vitro 試験への不信感、*in vivo* 試験の必要性について欧米と議論する場が必要であるとの提案および *in vitro* 試験として、小核試験やマウスリンフォーマ試験などの選択肢を拡大するという方向性で議論を進めてほしいとの提案について議論した。その結果の意見を以下にまとめる。

- 1) 薬事上の位置付けから、医薬部外品の遺伝毒性試験は医薬品に準じることが決まっており、ICH で決まったことが医薬部外品に適用される。
- 2) ICH による *in vitro* 試験の最高適用濃度の見直しで、今後、偽陽性が減ると思われる。
- 3) 一方、ICH では、遺伝毒性評価のための試験組合せにおいて科学的観点から依然 *in vivo* 試験が重視されており、とくに欧州における化粧品の原料・製品に関する動物実験排除に向けた動きとは相容れない。
- 4) ICH ではマウスリンフォーマ試験の利用はすでに決定事項であり、染色体異常試験の代替として利用可能である。*In vitro* 小核試験は OECD でまだガイドライン化を決定していないが、染色体異常試験との同等性はバリデーションされており、そのような理由書を添付すれば利用可能である。よって、これら2試験の技術的課題および申請におけるデータの受け入れ性について議論の必要はない。
- 5) 現在でも運用上で *in vitro* 試験がすべて陰性ならば、*in vivo* 小核試験は試験されない場合もある。

よって、医薬部外品の遺伝毒性を医薬品の評価と切り離さない限り、申請に用いるデータセットの考え方に関してこれ以上の議論は不要であるとの意見が示された。

3. COLIPA の進捗

笠松委員より、結論を急がず、欧州の動向を把握してほしいと COLIPA の遺伝毒性 Task force の進捗状況について説明があった（配布資料なし）。

主に、*in vitro* 試験の偽陽性への対処、培養皮膚モデルを用いた検討について共同研究が進んでいると紹介された。*in vitro* 試験の偽陽性への対処については、細胞株種や用量設定の見直しで議論されていると説明された。林委員より、Covance がこの検討を担当しており、近々公表されると補足された。

培養皮膚モデルを用いた検討については、小核とコメットが指標として使われており、これまでの *in vitro* 試験結果を補足する方法として、バリデーション研究を念頭に検討が進んでいると説明された。

また、米国の動向として、ボランティアのヒト臨床サンプルを用いて遺伝毒性を評価する研究が進んでいるとの情報が本間委員より紹介された。

4. その他

以上の情報を参考にすると、現時点で日本の議論を閉ざすことは危険であり、科学的技術動向だけでなく政治的な国際動向も把握した上で、今後の医薬部外品の安全性評価のあり方を検討していく必要があると結論付けられた。

遺伝毒性に関する議論が ICCR（化粧品国際規制会議）で行われるかは決定していないが、小島委員より4月に CVAM（動物実験代替法センター）の事前会議が開催されると紹介があり、当面、ここでの動向を把握する必要があるとされた。この会議の動向に応じて、本分科会の次回会議を4～5月に招聘すると小島委員より説明がなされた。

以上

分担研究報告書

三次元ヒト培養表皮モデル *LabCyte* EPI-MODEL を用いた 皮膚一次刺激性評価に関する研究

分担研究者 小島 肇 国立医薬品食品衛生研究所
協力研究者 新井晶子 国立医薬品食品衛生研究所

研究要旨

【背景と目的】 化学物質のヒト皮膚への刺激性を予測する試験法として、ウサギやモルモットを使用した皮膚一次刺激性試験が行われている。ウサギ等の皮膚表面に被験物質を塗布し、紅斑および浮腫を指標として被験物質の刺激性を評価する方法は、ドレイズ試験法と呼ばれ、OECD テストガイドライン 404 にも認証されている。しかしながら、多くの動物を犠牲にしなければいけないことから、ドレイズ試験を代替するための、ヒト由来の材料を使用した *in vitro* の皮膚一次刺激性評価法が必要であると考えられた。そこで開発されたのが、再構築されたヒト表皮モデルである。EPISKIN というヒト表皮モデルを使用する試験法（Post Incubation : PI 法）は、ドレイズ試験との一致率が高いことが実証されており、唯一、国際的な評価を得ている。わが国においても、いくつかのヒト表皮モデルが販売されているが、それらを用いた皮膚一次刺激性の評価方法は確立されていない。そこで、本研究では、EPISKIN で定められた PI 法のプロトコルに準拠して、国産のヒト表皮モデルを用いた皮膚一次刺激性試験を試みた。

【方法】 国産のヒト表皮モデルとしては、取り扱いや価格を考慮した上で、*LabCyte* EPI-MODEL を選択した。EPISKIN を使用する PI 法で用いられた 48 種類の被験物質のなかから、入手可能であった 45 種類の被験物質について、*LabCyte* EPI-MODEL を使用した PI 法を試みた。皮膚刺激性の指標としては、細胞毒性試験およびサイトカイン測定試験を行い、EPISKIN の結果と比較した。また、*LabCyte* EPI-MODEL に最適な PI 法のプロトコルについても検討した。

【結果】 *LabCyte* EPI-MODEL を用いた場合、既存の PI 法のプロトコルでは、陽性一致率は高いものの、陰性一致率は非常に低いことが明らかとなった。そこで、*LabCyte* EPI-MODEL に適した PI 法のプロトコルについて検討した結果、後培養時間を従来よりも短縮することで、陰性一致率を高めることが可能であった。

【結論】 EPISKIN を用いた PI 法の評価結果が、全ての皮膚モデルで再現可能とは限らない。そのため、各モデルに適したプロトコルの検討が必要である。*LabCyte* EPI-MODEL の場合、後培養時間を短縮した方が *in vivo* データとの一致率が高いと考察された。