

references prepared by the oversight committee, a peer review panel evaluates a new or revised test method. The roles of this ad hoc panel consist of the principles and criteria as laid out in OECD guideline No. 34. The members of the oversight committee and the peer review panel assigned to evaluate a new test method are selected by the JaCVAM steering committee. They include five or six specialists selected from academia, industry, the JaCVAM regulatory acceptance board, and the NIHS supporting system.

JaCVAM and its steering committee have a regulatory acceptance board for new or revised methods. This board is comprised of ten members who are either biostatisticians or dermatologists or who are delegates of JST, JSAAE, JPMA, JCIA, the Pharmaceuticals and Medical Devices Agency (PMDA), or the NIHS. These members are reelected every two years. The meeting of this board is held at the NIHS on a case-by-case basis if necessary. This board reviews new or revised test methods based on the reports of the peer review panel and prepares a report and statement on the test method for regulatory agency.

5. International coordination

Significant progress has been made in validating alternatives to animal testing in collaboration with international organizations. Particularly important is the JaCVAM cooperation with the European Center for the Validation of Alternative Methods (ECVAM), and NICEATM (NTP Interagency Center for the Evaluation of Alternative Toxicological Methods)/ICCVAM (Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods). These three centers are closely united and this may increase international cooperation. Together, our three organizations validated and peer reviewed a new test method which has been approved by OECD guidelines.

Table 1. Current validation and peer review conducted by JaCVAM

Test method	Material	Current activities
Phototoxicity	Yeast-RBC	Peer Review in progress
Skin sensitization	LLNA-DA	Peer Review in progress
	LLNA-BrdU	Validation in progress
	h-CLAT	Planning
Corrosivity	Culture model	Regulatory acceptance in progress
Skin irritation	Culture model	Planning on Peer Review
Endocrine disrupter	Lumi-cell, CER-estrogen reporter assay	Validation in progress
Mutagenicity	Comet assay (in vivo or in vitro)	Validation in progress

6. Conclusion

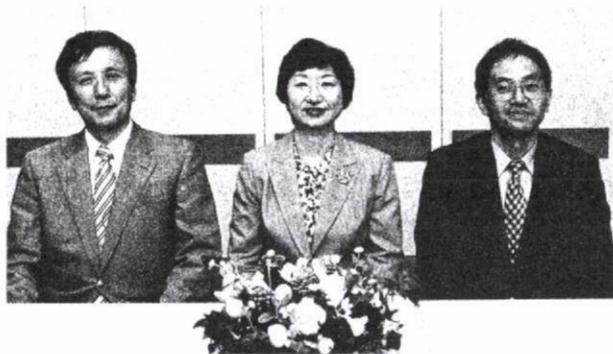
JaCVAM is currently coordinating validation studies and peer review for several test methods (shown in Table 1). Most of the test methods are to be used in the safety assessment of cosmetic products. JaCVAM's goals are to facilitate the validation of alternative methods with domestically developed test methods and to conduct peer review of these and internationally certified test methods, and promote practice of the 3Rs in the area of animal testing to accomplish our mission.

References

1. 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 14.
2. ICCVAM (1997) Validation and regulatory acceptance of toxicological test methods: a report of the ad hoc Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods. NIH Publication No: 97-3981, National Institute of Environmental Health Sciences (NIEHS).

アレルギー vs トキシコロジー

われわれを取り巻く環境には、免疫系に影響を与える物質が多く存在している。そのなかで、アレルギーに対する取り組みは進展してきたが、トキシコロジーについては十分な取り組みがなされてきたとはいえない。今回は、アレルギーとトキシコロジーの概念および接点を確認しながら、現在に至る経緯と今後の課題について考えてみたい。



わが国においては、
アレルギーに比べて
トキシコロジーに対する意識が
まだまだ低い状況です

言葉の概念と歴史および トピックス

松永(司会)——『皮膚アレルギーの旅』は2002年創刊以来年4回発行され、今までアレルギーに関するさまざまな情報を提供してきました。本来アレルギーとそうでない反応では何が違うのか、その両者のリスクを評価する方法は現在どこまで進んでいるのか、世界の情勢はどうか、そしてわが国が果たすべき役割は何なのか。今回は年初にあたりそのようなことを掘り下げてみたく、免疫毒性の研究を中心にご活躍の相場節也先生ならびに動物実験代替法の研究でご活躍の小島 肇先生を交えて「アレルギーvs トキシコロジー」と題して討議したいと思います。アレルギーとトキシコロジーがversusかandの関係かについてはいろいろな考え方がありますが、まず相場先生にアレルギーについての解説

●司会

松永佳世子 (写真中央)

藤田保健衛生大学医学部皮膚科学 教授

●ゲスト

相場 節也 (写真左)

東北大学大学院医学系研究科神経・感覚器病態学
皮膚科学 教授

小島 肇 (写真右)

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 新規試験法評価室 室長

(発言順、敬称略)

撮影/畑 博己

をお願いします。

相場——Allergology (アレルゴロジー) というのは、“-ology” という語尾が付いていることから「アレルギーを研究する学問」であり、具体的にはアレルギーの病態および診断・治療などについて研究するものといえるでしょう。現在アレルギーという言葉は「私は〇〇に対してアレルギーがある」というような形で一般的用語ともなっていますが、そもそも医学用語としてのアレルギーは、石坂公成先生が抗原に反応して生じるレアギン抗体がIgE抗体であると発見された時点から始まり、CoombsとGellが「アレルギー＝過敏反応」としてその発症機構の違いにより4型に類型化したことからアレルギーの概念が広がったように思います。

本来アレルギーとは、“自己”に対する過敏反応である自己免疫疾患とは対照的な概念で、動物性の蛋白質や他人の細胞あるいは化学物質など“非自己”に対して過敏に反応する状態と定義され、それを探求する学問がアレルゴロジーだと考えられます。過敏反応が起こる基礎にはやはり免疫反応が主として存在し、免疫学の進歩に伴ってアレルギーの考え方も変遷してきたわけですが、最近トピックスとして取りあげられているのがregulatory T細胞(制御性T細胞)です。免疫防御システムにおいてT細胞が防御ネットワークを構築することが知られていますが、このT細胞が自己組織を攻撃しないように制御しているのがregulatory T細胞であり、Foxp3とよばれるmaster gene regulatorにより制御されています。このregulatory T細胞が、自己免疫のみならずアレルギーにも深く関与しているのではないかと考えられ、今後の研究に期待が寄せられています。

松永——続いて小島先生に、トキシコロジーの概念や歴史あるいはトピックスについてお話いただきたいと思います。

小島——Toxicologyは毒物学・中毒学などと訳され、私たちの周りにあるさまざまな毒物を対象としてその作用あるいは生物活性などを研究する生化学、薬理学、病理学などを総括した学問です。いわば基礎的医学の上に成り立っている応用的学問で、欧米では広くかつ深く研究されて専門家も多く育っているのですが、わが国においてはトキシコロジーに対する意識がまだまだ低い状況です。活動主体としては、1973年設立の毒性研究会と1976年設立の毒作用研究会とが1981年に合体して日本毒科学会となり、これが1997年に「日本トキシコロジー学会」と改称され

トキシコロジーを啓発する場としては、「日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会」が相応しいと考えています。



松永佳世子

まつなが かよこ

Profile

1976年名古屋大学医学部卒業。三菱名古屋病院研修医。1977年同大学皮膚科入局、研修医。1978～1980年名古屋保健衛生大学医学部皮膚科助手。1980～1991年名古屋大学医学部附属病院および分院医員。1991～2000年藤田保健衛生大学医学部皮膚科学講師。2000年～同教授。2007年～日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会理事長。

専門分野

皮膚アレルギー、接触皮膚炎の原因解明・防御

て現在に至っています。トキシコロジーに関する学会は、日本免疫毒性学会、日本産業衛生学会、日本毒性病理学会などもあり、多くの関係者が携わっていますが、残念ながら若い研究者が育っていない印象があります。

トキシコロジーは、サリン事件やタミフル®など何か問題が起こらなければ注目されない分野です。しかし、化粧品、医薬品、食品添加物、農薬、金属、化学薬品、環境汚染物質、産業廃棄物、放射性物質、化学兵器など広範な領域を対象としており、極めて



相場 節也

あいば・せつや

Profile

1980年東北大学医学部卒業後、同大学皮膚科入局。1983年同科助手。1987～1990年米国国立癌研究所 皮膚科部門留学。1991年東北大学医学部皮膚科講師。1998年同助教授。2003年東北大学大学院医学系研究科神経・感覚器病態学皮膚科学分野教授。

専門領域

乾癬、アトピー性皮膚炎、皮膚免疫、接触皮膚炎ならびに炎症性皮膚疾患の発生機序の解析、皮膚ランゲルハンス細胞の免疫学的解析

私たちが知らずに触れている化学物質が私たちの免疫系にどの程度影響を与えているかは全く未知なのです。

重要な意義を持っていることから最近ではマスコミでも取り上げられる機会が多くなりました。

松永——私は2007年7～8月の2週間EUを訪れ、接触皮膚炎や食物アレルギーあるいはトキシコロジーを専門にしている臨床現場を視察してきました。そのなかで特に驚いたことは、スウェーデンのMalmö大学病院の皮膚科クリニックです(図1)。外来には20以上の診察室、診療室があり、下腿潰瘍などが洗える足洗い場のある部屋、narrow band UVBあるいはbroad band UVBなどのレーザー治療専用の部屋などが複数ある。そのクリニックとは別にoccupational dermatology(職業性皮膚科学)を主とするクリニックが研究所とともに併設されており、職場で問題になった化学物質を持っていくと直ちに分析・抽出して薄膜クロマトグラフとして検査・診断・治療あるいは予防対策に直結できるようになっている。つまり、アレルギーおよびトキシコロジーに研究所が併設され、皮膚科医に有機化学の研究者が付いて、そこでスウェーデンの職場の問題が即座に解決できるようになっているのです。そのような施設の存在もさることながら、そこで実験を行っている人や周囲の人たちの健康を守るためのリスク管理が徹底されていることにも驚かされました。その点ではわが国は立ち遅れており、現実的には複数の施設が連携を組むしかないのでしょうか、早急にできることから取りかからなければならないと考えさせられました。現在はインターネットもあれば航空便で簡単にものを送ることもできますので、国際的な連携を考えることも可能でしょう。

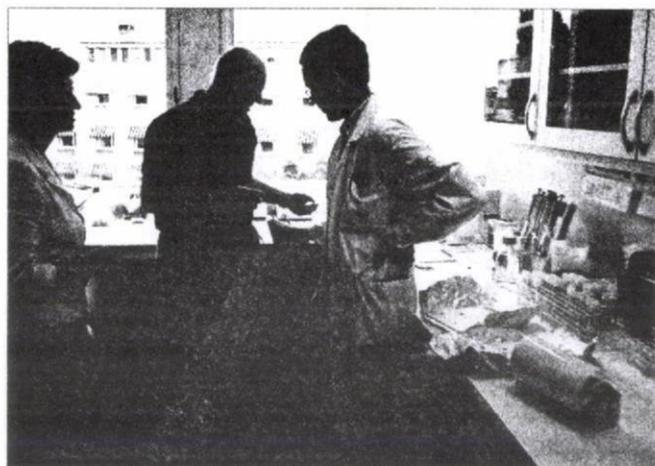


図1 Malmö大学病院

薄膜クロマトグラフで分析し、プラスチックの上にスポットを作り、そのものを患者さんの背中でパッチテストできるようになっている。左から松永教授、Magnus Bruze教授、有機化学者

免疫領域の研究あるいは
トキシコロジーの領域は、
今後新しい知見が明らかとなる
伸びゆく分野です

トキシコロジーと免疫毒性 および代替法

松永——わが国の皮膚科領域では、アレルギーについては多くの医師が十分認識して取り組んできましたが、トキシコロジーに関しては取り組まなければならない重要分野であるという認識が足りなかったように思います。今後これを啓発する場として「日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会」が相応しいのではないかと考えていますが、先生方はこの問題についてどのようにお考えでしょうか？

相場——現在は動物愛護に関する社会の関心が高く、2007年の「日本動物実験代替法学会」においても動物実験ができなくなることが大きな話題となっていました。ネズミなどの動物が自由に使えた状況では、仮に接触皮膚炎のメカニズムがわからなくても感作性試験は可能でしたし、ウサギの眼を使って刺激反応をみることも可能でした。ところが、動物実験の代替として *in vitro* あるいはハイスルーブットスクリーニングで何かを検証しようとすれば、対象であるメカニズムがわからないことには何も進まないのです。しかし、人間というのは障害が現れて進歩するもので、動物実験ができなくなると決まった途端にメカニズム解明に取り組む解決策を探ろうと研究努力を重ねる。ここが代替法学会の非常におもしろいところです。トキシコロジーについては、毒物の毒性をみるだけではなく、毒性を発揮するメカニズムを真剣に探求するレベルにきていると思います。

小島——同感です。実験動物は、人間と同じ生物だからそれで反応がみえたというブラックボックス型で評価するのですが、代替法の場合は作用機序やすでに明らかになっている知見に基づいて特性を評価しなければなりません。免疫領域の研究あるいはトキシコロジーの領域は、その作用機構の解明が重要な分野であり、今後新しい知見が得られればさらに伸びゆく分野です。「日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会」においては、トキシコロジーの分野、特に皮膚トキシコロジーにおける病態・診断・治療・予防などの研究をぜひとも行っていただきたいと思っています。

動物実験をやめた場合に代替法を組み込んで、
はたしてどれだけ国民の安全・安心を担保できるかが問題です。



小島 肇

こじま けいじ

Profile

1983年岐阜大学・農学部農芸化学科卒業。同年日本メナード化粧品株式会社入社。1984～1986年国立遺伝学研究所・形質遺伝部留学。1996年長崎大学薬学部にて博士号取得。2005年国立医薬品食品衛生研究所入所。
学会活動：日本動物実験代替法学会 評議員（庶務・総務、理事、評議員）
日本トキシコロジー学会 編集委員
日本接触皮膚炎学会 評議員・共同研究委員、広報委員

専門分野

毒性学、変異原性、組織培養、バリデーション

相場——皮膚というのは大きな問題を含んでおり、アレルギー性の接触皮膚炎はもちろんのこと一次刺激性の接触皮膚炎ですらそのメカニズムは明らかではありません。“刺激性”には多様な要因があり、発症機序も異なれば産生されるサイトカイン・ケモカインのレベルも異なります。単にIL-1 α の測定やMTTアッセイ法で細胞増殖活性をみるだけでは解明し得ないところがあり、これから一次刺激性接触皮膚炎に取り組むのも案外おもしろいかもしれません。

松永——相場先生は、どうして免疫毒性の研究に深く

関わられるようになったのですか？

相場——最初に樹状細胞に関わったことでしょうか。接触皮膚炎における樹状細胞の動態を調べるに際して、まず蛍光顕微鏡を使って染めた表皮を観察した時にランゲルハンス細胞の美しさに胸を打たれ、また、化学物質を加えた時に*in vivo*で活性化する樹状細胞が意外とハプテン特異的であったことに関心が高まりました。やがて*in vitro*でも樹状細胞の研究ができるようになり、接触皮膚炎の発症機序を樹状細胞を使って解析してきました。一方、ディーゼルエンジン廃棄微粒子やホルマリンが免疫系のT細胞およびT細胞の転写因子におよぼす影響についても解析してきました。その解析方法がh-CLAT (human Cell Line Activation Test) の開発につながったのです。(図2)。

考えてみれば、私たちが知らずに触れている化学物質が私たちの免疫系にどの程度影響を与えているかは全く未知とわかっていない。ディーゼルエンジン廃棄微粒子の影響を科学的に解析した例は少なく、私たちの環境を取り巻くほかの多くの化学物質が大丈夫なのかを調べてすらいない。免疫毒性物質は野放しになっている。ではなぜ野放しになっているのかといえば、多くの感作があるにもかかわらずそれを簡易的に測定するアッセイ法がないのです。そのアッセイ法を開発するためには、免疫毒性の起こってくる機序を考えなければなりません。免疫毒性の基本形は、ある化学物質が加わった時に惹き起こされる細胞のstress responseが免疫系に影響を与えることです。1つひとつの化学物質により特殊性はありますが、基本的にはそのような細胞のstress responseを抑制することで免疫反応および免疫毒性が捉えられるのではないかと考えています。

松永——ありがとうございます。続いて、小島先生が代替法の研究に関わられた経緯および現状についてご紹介ください。

小島——代替法とは実験動物の福祉を目的とした3Rs (Reduction, Refinement, Replacement) のなかのReplacementにあたる「動物実験代替法」のことで、化粧品業界では特に注目されています。欧米では代替法を扱う専門行政機関が1991～1997年に設立されました。さらにEUでは、「化粧品の安全性評価のための動物実験を原則として2009年までに全廃するとともに、動物実験を行った化粧品の販売を禁止する」と法制化されたのです。化粧品は輸出入されていますし、国際ハーモナイゼーションの流れからもわが国として対策を講じないわけにはいかず、2005年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内にJaCVAM (Japanese Center for the Validation of Alternative Methods) が設立され、代

替法の評価を進めていくことになりました。私は20年ほど一般企業に在籍していましたが、JaCVAM設立と同時に招かれ、現在は国内各学会や企業および国際的機関であるOECDやICHなどとの連携を図りながら、代替法に関する情報センターの役割を担って活動しています(図3)。

毒性のある物質が
シグナル伝達分子に作用するか
否かがアレルギー反応の惹起に
関わってきます

トキシコロジーとアレルギー の接点と今後の課題

松永——アレルギーとトキシコロジーのメカニズムを考えた場合、両者には類似点と相違点がみられますが、相場先生はどのようにお考えですか？

相場——トキシコロジーの領域である毒性物質について、この物質がsignal transductionの分子に作用するか否かがアレルギー反応の惹起に関わってきます。例えば、樹状細胞が活性化されるために必須なシグナル分子としてNFκBやMAPキナーゼp38がありますが、接触皮膚炎を起こすハプテンなどの毒性物質がたまたまこれらのシグナル分子に作用を及ぼすことが考えられ、この時点でトキシコロジーとアレルギーとは接点を持つことになります。ただ、毒性物質のどのような特性が皮膚刺激に関連しているのかについては、現在のところ全く未知だと思います。

小島——例えば皮膚が赤くなる症状があるとします。その原因がわからなければまた症状を繰り返すことになってしまいますから、それぞれの物質の皮膚刺激やアレルギーに対する反応を検討しなければなりません。ところが、アレルギーや皮膚刺激などで皮膚が赤くなる程度の研究には国からの支援がほとんど望めませんし、研究者も予算の少ない分野には寄り付きません。皮膚に何か症状を起こす物質は生体にもよからぬ影響を及ぼすかもしれず、実際に肝障害や腎障害が起こってからキャッチしていたのでは、本当の意味での安全性の担保はできません。

相場——皮膚科の臨床現場においては、医療費および人や材料の問題からパッチテストひとつ満足に行うことができません。病院経営からすればパッチテストよりも手術が求められ、厚生労働省ですら採算の

合わないものについては切り捨てる方針です。採算優先で臨床研究は疎かにならざるを得ず、医療に携わる人にとっても患者にとっても望ましい医療とは程遠い状況に陥りつつあります。

松永—このような状況の中では、アレルギーやトキシコロジーに関する有用なシステムを単独施設で組み立てることは難しく、行政と臨床が協力して全国ネットを組むしかありません。できれば1箇所に集中してセンター化すれば、困った患者や情報、ものなどが集まり、先述したスウェーデンの皮膚科クリニックのような施設に近づくとと思いますが、問題は予算です。

小島—わが国の分析技術などは決してスウェーデンなどに劣っているわけではありませんし、企業内や受託で分析に携わっておられる方の中には優秀な研究者が大勢おられます。「日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会」が日本化学工業協会やコスメトロジー研究振興財団などと予算およびマンパワーの面でタイアップしていくことで、システム作りの可能性が

みえてくるのではないのでしょうか。

松永—小島先生は、このような現状においてわが国がどのような役割を果たせるとお考えですか？

小島—代替法に関してはEU主体で展開されていますので、世界のバランスの中でわが国の果たすべき役割を模索しているところです。例えば、相場先生が開発された*in vitro*感作性試験法（h-CLAT）は世界の先端技術の1つですから、この試験系でわが国が世界をリードできれば刺激やアレルギー反応の原因探求面において重要な役割を担っていただけるのではないのでしょうか。ただ、化粧品の場合はアレルギー物質を含有させないという考え方でいいのですが、問題は医薬品です。薬効のあるものにアレルギーがあったとしても、それが有用であれば使わないわけにはいかない。動物実験ができなければ代替法によるわけですが、h-CLATだけではリスクアセスメントとしての曝露評価や濃度依存性評価をできませんので、その点を解決する方法を次に開発していかなければなりません。例えば、樹状細胞を取り込んだ皮膚

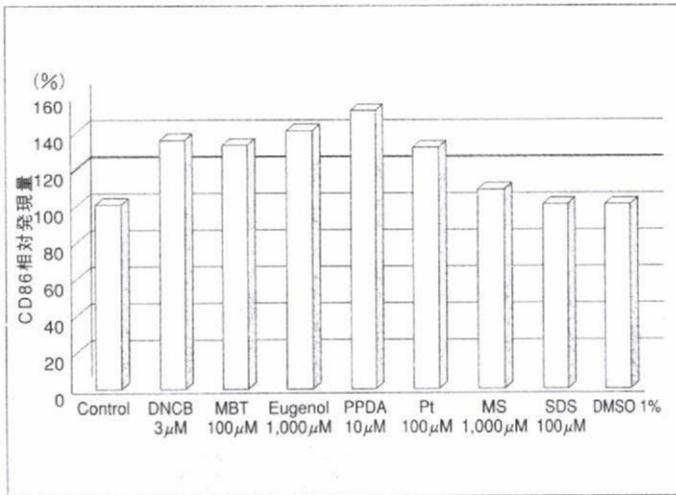


図2 化合物のTHP-1細胞CD86発現に対する影響 (h-CLAT)

それぞれの化合物（カッコ内はLLNAによる感作性評価）をTHP-1細胞に24時間処理し、CD86の発現量をフローサイトメトリーにより測定してコントロールと比較した。その結果感作性物質により120%以上の発現亢進を示した。

DNCB: 2,4-Dinitrochlorobenzene (extreme), MBT: 2-Mercaptobenzothiazole (moderate), Eugenol (weak), PPDA: 1, 4-Phenylenediamine (strong), PT: Ammonium tetrachloroplatinate (sensitizer), MS: Methyl salicylate (non-sensitizer), SDS: Sodium dodecyl sulfate (non-sensitizer), DMSO (non-sensitizer, vehicle)

(Ashikaga T, et al: Toxicology in Vitro 16: 711-716, 2002より改変)

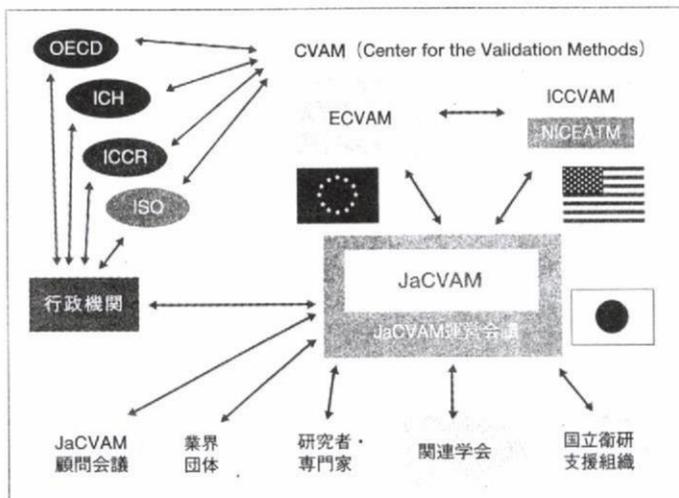


図3 JaCVAM運営組織図

ECVAM: European Center for the Validation of Alternative Methods
 ICCR: International Cooperation on Cosmetics Regulations
 ICCVAM: Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods
 ICH: International Conference on Harmonization
 ISO: International Organization for Standardization
 JaCVAM: Japanese Center for the Validation of Alternative Methods
 NICEATM: National Toxicology Program Interagency Center for the Evaluation of Alternative Toxicological Methods
 OECD: Organization for Economic Co-operation and Development

モデルであれば、アレルギー物質のリスクアセスメントができますから、これをいかに作製するかというサイエンスの発展が重要になってきます。そのために、幹細胞研究の成果を皮膚モデルの構築につなげるような研究を継続して行わないことには、医薬品業界あるいは医療全体のリスクアセスメントにつながる議論にならないのです。

松永——最後になりましたが、2008年年頭にあたり、先生方の課題あるいは抱負をお聞かせください。

小島——動物実験をやめた場合に代替法を組み込んで、はたしてどれだけ国民の安全・安心を担保できるかが問題です。医薬部外品には安全性試験のガイドラインがあり、医薬品にも免疫毒性試験といったガイドラインがありますが、それに動物実験の3Rsをどのように加味して現在の安全性の質を保つかというところを、多面的、根本的に議論しながら長期的な方向性を見定めていかなければなりません。その議論が盛んになり成熟していくという意味で、2008年は非常に重要な年であると思っています。

相場——最近、皮膚科に「環境」を冠したenvironmental dermatology（環境皮膚科学）が話題になっています。皮膚というものは常に環境の影響を受けている臓器であり、環境が細胞にどのような影響を与えるのかという研究にはまだ多くの未解決の問題が残されています。私は、その中でも特に免疫を柱としてもう少し免疫毒性のメカニズムに迫ってみたいと思っています。

松永——私は、socio-dermatology（社会皮膚科学）として、もっと外に開かれた皮膚科を目指したいと考えています。その魁として、臨床で接触皮膚炎に取り組んできた経験を活かし、今回話題に上ったアレルギーロジーあるいはトキシコロジーの分野におけるネットワークあるいはオンラインシステム作成の準備に取り掛かりたいと思います。本日は、貴重なご意見をいただきありがとうございます。

(2007年9月1日収録)

座談会を振り返って



松永佳世子

EUでは、接触皮膚炎などの健康被害制御のために世界に先駆けて化学物質の安全性を見据えた対策がとられている。今回の座談会では、相場先生、小島先生とともにわが国における免疫毒性、毒性学領域の現状と展望について率直に語り、今後、化学物質の毒性・感作性制御には産学官のネットワーク作りが急務と再確認した。



相場節也

今回、松永先生には、アレルギーロジー vs トキシコロジーというおもしろいテーマで座談会を企画していただき感謝いたしております。皮膚は、外界に直接接触する数少ない臓器の1つであり、同時に発達した免疫器官でもあります。したがって、皮膚では、化学物質による毒性が免疫担当細胞の働きを加味して現れてきます。その意味では、この両者は、これからも皮膚科研究の大きなターゲットで有り続けると思います。



小島 肇

本座談会は、自分自身の仕事やトキシコロジーを見つめ直すよい機会でした。この機会をお与え頂きました松永先生に感謝しています。動物愛護はもちろん大切ですが、国民の安全・安心を守ること、国益を求めて国際協調を進めることも重要です。その意を汲み取って頂ければ幸いです。