

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
感作性分科会第6回会議議事録

日時：平成20年11月26日（水）15：00-17：30

場所：国立衛研 28号館 セミナー室

委員：横関（東京医科歯科大）、中田（昭和大）、大野（国立衛研）、金澤（食薬センター・秦野研）、
坂口（花王）、小島（国立衛研）
以上順不同、敬称略

配布資料：

- 1) 第5回議事録
- 2) 特別会議議事録
- 3) 日本動物実験代替法学会 第21回大会発表原稿
- 4) 分科会報告書案

議事

1. 前回および特別会議議事録確認

小島委員より、前回会議（資料1）と今回会議の間に、金澤委員および坂口委員との打ち合わせを開催し、作成して頂く報告書内容について調整したと説明された。これが資料2に示す特別会議議事録であると説明された。

2. 学会発表原稿の紹介

去る平成20年11月14日に開催された日本動物実験代替法学会第21回大会 特別セッションにて発表された金澤先生より、発表原稿の紹介がなされた（資料3）。質疑にてフロアから提起された交差感作性検出の可否に対して意見交換がなされた。現行のモルモットを用いる試験でも確認は難しい、ヒトパッチが有用である、感作能がなければ交差反応はないなどの意見が出された。また、感作性のリスク評価についても意見交換がなされ、感作閾値と惹起閾値どちらでリスクを評価すべきか（ヒトパッチでは惹起で閾値を評価している）、惹起の作用機構は不明、界面活性剤は疑陽性を起こしやすい、ICHでもLLNAの疑陽性の多さが医薬品開発で問題視されているなどの意見交換がなされた。

3. 報告書内容について

資料4に示す報告書について、坂口委員が内容を読み上げながら慎重に検討した。その結果、試験法の短所やリスク評価の詳細な検討内容については本文には記載せず、付録とすることになった。付記事項についても付録として添付し、OECDガイドラインをもとにした検討結果であるとの立場を明確にすることが確認された。以上の報告書案を金澤委員および坂口委員が校正し、全委員にメールで回覧した後、年内に小島委員に提出することが了承された。

なお、感作能や試験法などの用語を統一することが要望として示された。

4. その他

今後の予定は未定である。分科会報告書をあり方検討会に提出し、その必要性に応じて本分科会の開催を呼び掛けると小島委員より説明された。

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4回会議議事録

日時：平成20年4月30日（木）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）、畠（J-TEC）、萩野（資生堂）、瀬戸（P&G）、小島（国立衛研）、森田（アイリス動物医療センター） 以上順不同、敬称略

配布資料：

- 1) 第三回会議議事録
- 2) 粘膜刺激性試験 毒性試験講座 機能毒性学 地人書館
- 3) 眼安全性試験の in vitro の手法による代替：試験系の概要と将来的発展
- 4) Draize 試験の解析
- 5) 森田先生 プレゼン資料

議事

1. 資料の紹介および昨今の動向について

小島委員が先回議事録（資料1）の今後の予定を通読し、本会の検討内容について確認した。また、先回の会議後にメールで配布された「粘膜刺激性試験法」の文献が資料2として配布された。瀬戸委員から1990年代にP&Gで検討された総説（資料3）が配布された。

小島委員より、眼刺激性試験代替に関する昨今の国際動向が紹介され、ICCR（国際化粧品規制会議）による眼刺激性試験代替法の検討が予定されていることや、培養角膜モデルのパリテーション研究が欧州で進んでいることなどの理由から本分科会の見解作成を次回から本格化したいと説明された。畠委員より、培養角膜モデルの作製に関する基礎研究が少なく、将来性を危ぶむ声が聞かれた。

2. Draize 試験の解析

資料4を用いて萩野委員より、Draize 試験の解析として、厚生科学研究の解析結果（最大評価点と回復時間、部位毎の評価点、ばらつき）およびヒトとウサギの反応の比較などについて説明があった。この中で、最大評価点と回復日数には関連性があるなどの新しい見解が明らかにされるとともに、界面活性剤などによる眼刺激性ではヒトよりもウサギの感受性が高く、ウサギの回復は遅いなどの文献結果が説明された。この原因について意見交換したところ、ウサギとヒトの解剖学的、生理学的な差が影響しているという様々な指摘があった。金子委員はヒトに比較してウサギは角膜が薄く、涙の量が少ないことを指摘した。森田先生は鼻涙管がヒトは二つであるのに対し、ウサギは一つであり、しかも通路がまがりくねっているため、流れにくく、つまりやすい構造であり、化学物質の貯留性が長くなる可能性を指摘した。平野委員および畠委員から、過去の経験からウサギ角膜のアルカリ外傷モデルが作りやすく、ヒトよりもウサギの耐刺激性が強いとの認識も紹介され、これらの感受性に関する違いは化学物質の種類によって異なるのではないかとの考察がなされた。また、ヘプタノールモデルは直りやすいことも紹介された。ばらつきについては、金子委員より、厚生労働科学研究の Draize 試験に用いたニュージーランドホホワイト種は個体により肉芽の増生を起こしやすく、個体差が大きいことなどが説明された。

3. ウサギの角膜について

資料5を用いて、森田先生より、角膜上皮の損傷治癒過程についての説明とともに、ウサギの角膜疾患およびその治療例が紹介された。紹介された症例は、ヒトの治療方法と類似しているとの平野委員からの説明があった。ウサギとヒトの組織の違いとして、上記の鼻涙管の数の他に、ヒトにはポーマン層がある（ウサギにはない）、ウサギの内皮は再生する（ヒトは再生しない）、ウサギには瞬膜がある（ヒトにはない）ことなどが説明された。

4. あり方検討会の説明および分科会の進め方について

以上の情報をもとに、次回、厚生労働科学研究で確認された動物実験代替法のガイダンスの行政的な受け入れについての意見交換が小島委員より提案された。萩野委員が必要な資料を用意し、次回の会議冒頭でガイダンス案を説明することになった。また、森田先生に本委員会への参画が依頼された。

次回、平成20年7月2日（水）16時より、名古屋の今回と同じ会議室にて第五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5回会議議事録

日時：平成20年7月2日（水）16：00-19：00

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) 第4回会議議事録
- 2) 厚生労働科学研究バリデーション及び化粧品の眼刺激性評価ガイダンス案について
- 3) GHS Q&A
- 4) 承認申請の際の添付資料
- 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) Toxicological endpoints for which methods are ready before 2009 and 2013
- 7) Principles and criteria for regulatory acceptance of a new updated test method
- 8) 米国化粧品工業会 CTFA 安全性ガイドラインの眼刺激性部分

議事

1. 欧米の状況および今後の予定について

配布資料6を用いて、欧米における眼刺激性試験代替法の開発動向が小島委員より紹介された。2009年3月までに強い眼刺激性を検出できる試験法として、牛摘出角膜試験（BCOP）および鶏摘出眼球試験（ICE）のOECDガイドライン化が進むと予想されると説明された。中程度～弱眼刺激性を検出できるその他の代替法についても、COLIPA（欧州化粧品工業連合会）を中心に検討が進んでいると紹介された。また、瀬戸委員より、今後の資料のまとめに有用であると思われるPCPC（米国化粧品工業会、旧CTFA）がまとめた代替試験法の長短所一覧（資料8）が紹介された。

2. ガイダンス案の説明および意見交換

先回会議（資料1）にて約束された厚生労働科学研究で検討されたガイダンス案の説明が、萩野委員より資料2を用いてなされた。ガイダンス案に示した手順で細胞毒性試験を用いれば、GHS基準にも合致した眼刺激性試験の予測ができると説明された。

質疑応答において、金子委員より、バリデーション研究では血清や細胞のロットが統一化されており、この差について危惧を感じていると意見が述べられた。小島委員より、本試験法は10%水溶液ではin vivo結果と相関するものの原液とは相関しないと報告されている。これでは資料3に示すGHS（化学品の分類および表示に関する世界調和システム）で対象とする化学品（純粋な化学物質、その希釈溶液、化学物質の混合物）すべてを評価できず、OECDガイドライン化を目的とした第三者評価に入れないと説明された。資料5に示すように、「医薬部外品の申請資料として用いることが可能な代替試験法はOECD等により採用されたものか、適切なバリデーションでそれらと同等と評価された方法」とされており、第三者評価が済んでいない試験法の公定化作業は難しいとの意見が述べられた。よって、ガイドライン化を目指すならば、一部の施設においてもGHSによる指標を用いて細胞毒性データを揃える必要があるとの見解が示された。

この問題についてさらに意見交換した結果、本分科会のメンバーの一部で第三者評価を行う提案がなされ、まず委員全員が細胞毒性試験の方法（非水溶性物質の扱いなど）、結果、内容をより詳細に認識する必要があるとされた。そこで、小島委員より関連した細胞毒性の論文および報告書を早急に配布することになった。細胞毒性の中でも特に、SIRC-NRを中心に内容を確認することが依頼された。

なお、萩野委員より、今回解析に用いたドレイズ試験結果は公表されていないものも使用しており、その使用許可を厚生労働科学研究の班長である大野先生より取ると説明された。

3. その他

最終的な行政的な受入れのための評価項目および報告書の記載項目について、資料7を用いて小島委員より説明された。次々回以降、この項目を用いて検討結果のまとめや報告書の作成を化粧品工業会の委員を中心にまとめて頂きたいと小島委員より依頼された。

次回分科会において、JaCVAM眼刺激性試験評価委員会と合同で会議を開催し、BCOPおよびICEについての見解を説明して頂くことを計画していると小島委員より説明があった。

次回会議は9月17日16時～、次々回会議は細胞毒性に特化した意見交換を主目的として10月15日18時～に開催することが決まった。

以上

試験法の第三者評価委員会眼刺激性試験第6回会議、および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6回会議議事録

日時：平成20年9月17日(水)16:00-18:30

場所：名古屋 名駅 IMAIビル7階 J会議室

委員：平野耕治(藤田保健衛生大学)、金子豊蔵(国立衛研)、畠賢一郎(J-TEC)、萩野滋延(資生堂)、瀬戸洋一(P&G)、森田正道(アイリス動物医療センター)、籾内桃子(国立衛研)竹内早苗(P&G)、山本直樹(藤田保健衛生大学)、増田光輝(国立衛研)、小島肇(国立衛研) 以上、敬称略

配布資料一覧

- 1) 医薬部外品の製造販売承認申請における安全性に関わるあり方検討委員会 眼刺激性分科会
 - 2-1) ウシ角膜を用いた眼刺激性試験代替法(ワード)
 - 2-2) ウシ角膜を用いた眼刺激性試験代替法(パワーポイント)
 - 3-1) ニワトリ摘出眼を用いた眼刺激性試験代替法(ワード)
 - 3-2) ニワトリ摘出眼を用いた眼刺激性試験代替法(ワード)
- 4) OECD GUIDELINE FOR THE 1 TESTING OF CHEMICALS
Draft Proposal for a New Guideline: The Bovine Corneal Opacity and Permeability (BCOP) Test Method for Identifying Ocular Corrosives and Severe Irritants
- 5) OECD GUIDELINE FOR THE 1 TESTING OF CHEMICALS
Draft Proposal for a New Guideline: The Isolated Chicken Eye (ICE) Test Method for Identifying Ocular Corrosives and Severe Irritants
- 6) 眼刺激性代替法を巡る国内外の動向

議題：

小島委員が司会を務め、本日の議事内容について紹介した。参加者の自己紹介、配布資料の確認後、議事を進めた。

1. 眼刺激性代替法を巡る国内外の動向
資料6を用いて「眼刺激性代替法を巡る国内外の動向」について小島委員から説明があった。ICCR(化粧品国際規制会議)の具体的な議事内容について質疑応答がなされた。
2. 医薬部外品の製造販売承認申請における安全性に関わるあり方検討委員会 眼刺激性分科会報告
医薬部外品の製造販売承認申請における安全性に関わるあり方検討委員会 眼刺激性分科会の進捗内容について、資料1を用いて瀬戸委員から説明がなされた。
ドレイズ試験がばらつく理由、細胞毒性試験による医薬部外品の眼刺激性評価を、あり方検討会眼刺激性分科会で実施する旨などについて質疑応答がなされた。
3. 評価委員会報告
 - 3-1. ウシ角膜を用いた眼刺激性試験代替法(BCOP)第三者評価報告について
ウシ角膜を用いた眼刺激性試験代替法(BCOP)について、資料2を用いて竹内委員が説明した。以下の質疑応答がなされた。→以降に回答またはコメントを示した。
 - 1) in vivoの比較結果には何を用いるか。→GHS基準、EU基準、US EPA基準である。日本ではGHS基準が重要と考え、GHS基準で検討している。
 - 2) 角膜の死後崩壊の懸念は？n数は？→摘出後の時間経過によってバラツキが大きくなると推測される。摘出後最大5時間とされている。n数は3個。3と6では大差ないという報告がある。
 - 3) 角膜を透過しなければ虹彩には影響がないと考えられる。角膜透過性や細胞毒性で眼への刺激を推定できると考えられる。
 - 4) 強い刺激物質を評価する試験法であるのに処理時間が長すぎるのではないか。→処理時間は研究成果に基づいて決められている。
 - 5) 牛摘出眼でヒトへの外挿ができるのか。→ドレイズ試験との比較検証である。
 - 6) 偽陰性・偽陽性の理由は何か。→試験条件に差がある。牛角膜は瞬膜がない、角膜が厚いなどの種の違いが関係するかもしれない。
 - 7) 腐食性や強い眼刺激性を限定的に評価している。眼刺激性が弱いものの評価は現在評価中である。
 - 8) 試験に不適当な物質として挙げられている過炭酸ナトリウムなどは物理化学的性質で評価できる。
 - 9) 病理組織学的な評価はスコアにどのように反映されるのか。フルオレセインの透過性と病理組織の損傷は対応すると思うが検討されているか？→評価がボーダーラインにある場合に総合的に判断するため

の補助的な扱いである。米国にて病理組織の数値化が検討されていると聞く。弱い刺激性の評価には有用かもしれない。フルオレセインの透過性と病理組織の損傷との比較検討はなされていない。

- 10) 遅発性や回復性は評価できるか。 →見られない。典型的な遅発性物質であるアルカリ度の高い物質は物理化学的性質で評価可能である。
- 11) エタノールの評価は可能か。 →陽性対照として推奨されている。ただし、他のアルコールは評価できないとされている。
- 12) 化粧品原料、部外品原料を評価するうえで強い刺激を評価することは価値があり、アクシデントで物質が眼に入り、その場合に洗眼することを考えると弱い刺激を評価することは無意味ではないかとの意見があった。これに対して、化粧品は人体にとって異物だから眼に入った場合は洗眼していただくが、例えば洗眼処置を行わなかったとしてもあらゆる種類の化粧品に配合して、角膜へ傷害を起こさない物質(濃度)か否かを評価することは価値があり、これまでの厚生科学研究ではMAS15をその基準としてきた。そしてMAS15を上回る場合には、洗眼処置を入れたin vivoの評価、現在世の中で安全に使われているものとの比較、製品の使い方を含めた検討、注意表示などを考慮して製品を上市するという考え方があった。
- 13) 本BCOPおよびICE試験法では、腐食性および強刺激性物質を対象とする評価系であることから、第三者評価委員会では、この点にターゲットを絞り検討している。

3-2. ニワトリ摘出眼を用いた眼刺激性試験代替法(ICE)第三者評価について

ニワトリ摘出眼を用いた眼刺激性試験代替法(ICE)について、資料3を用いて山本委員が説明した。以下の質疑応答がなされた。→以降に回答またはコメントを示した。

- 1) ドレイズ試験と原理的には似ているので、無刺激性物質の選別も期待できるのではないか。
- 2) 資料では「フルオレセインの透過性」となっているが、上皮の欠損が指標ではないか。 →修正する。
- 3) 眼球的洗浄液の温度 32℃は妥当か？鳥の体温は40℃である。→温度設定の根拠は不明である。In vivoでの角膜表面の温度であろうか。
- 4) 特定の施設しか実施できず、技術の移転性の評価がなされているか疑問である。
- 5) グレーディングの客観性が疑問である。
- 6) 将来的には機器の改良(デジカメ使用など)により、主観的な評価という欠点を解消し客観的な評価が期待できると思われる。
- 7) 眼球の大きさについて →人間と直径は同程度である。ただし、厚みは薄い。ニワトリの眼球は綺麗なものが多い。
- 8) 病理組織学的評価は標本作製時の影響や客観性の問題から、難しいのではないか。
- 9) この試験のために動物個体を殺すのか。 →食用ニワトリの流用と考える。
- 10) ウサギの摘出眼球の使用はどうか。 →バリデーション後の評価で脱落している。なぜ脱落したのかを確認したいところである。

3-3. 今後の予定

籾内委員長より、日本での試験経験がない方法であることおよび生データがないことから、細かい方法で曖昧なところが残っているが、強刺激性の評価(GHS表示)には対応できるとの見解で年内に報告書をまとめると説明された。

4. その他

今回の評価会議は平成20年11月10日(予定)、あり方検討会眼刺激性分科会会議は平成20年10月15日であることが小島委員より報告された。

現在、両方法のOECDガイドライン案について、種々の工業会にコメントを募集していると小島委員より説明された。評価委員会のコメントと合わせ、10月には厚生労働省に送付の予定であるとされた。

以上

医薬部外品の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7回会議議事録

日時：平成20年10月15日（水）16：00-18：00

場所：名古屋 名駅 IMAI ビル 8階 H会議室

委員：平野耕治（藤田保健衛生大学）、金子豊蔵（国立衛研）、畠賢一郎（J-TEC）、萩野滋延（資生堂）、
瀬戸洋一（P&G）、森田正道（アイリス動物医療センター）、小島肇（国立衛研） 以上、敬称略

配布資料一覧

1) 細胞毒性試験の検証

議題：

小島委員が司会を務め、本日の議事内容について紹介した。

1. OECD ガイドラインの動向

OECD ガイドライン（ウシ角膜を用いた眼刺激性試験代替法：BCOP およびニワトリ摘出眼を用いた眼刺激性試験代替法：ICE）の動向について小島委員から説明があった。業界団体および JaCVAM 評価委員会の協力を得て作成された日本のコメントが厚生労働省よりまもなく送付されると紹介された。本件に関する OECD の検討会議が12月に開催されると厚生労働省より連絡を受けていると説明された。

2. 細胞毒性試験の検証

萩野委員より、資料1を用いて SIRC 細胞株を用いる細胞毒性試験（以下、SIRC と示す）、培養真皮モデル MATREX を用いる細胞毒性試験（以下、MATREX と示す）およびそれらを組み合わせた場合の評価について、厚生労働科学研究結果や資生堂における in house の結果を用いて説明がなされた。その結果、SIRC および MATREX とも偽陰性が少なく、角膜傷害（最大評価点：MAS 15 における区別）の有無を予測できる試験法であると説明された。

質疑応答において、以下の内容が議論された。

- 1) 資生堂の膨大な検討に出席者から賛辞が述べられた。
- 2) SIRC は10%水溶液の結果しか予測できないことは、医薬部外品の公的な評価法としては違和感があるという意見があった。これに対し、化粧品、薬用化粧品原料で10%以下の濃度で製品に配合されるものは極めて多く、10%配合できるか否かの評価は大きな意味を持つという意見もあった。SIRC は10%水溶液の眼刺激性予測という限定に加え、さらに水溶性物質、培地に溶解する物質のみという限定も必要である。
- 3) SIRC の受け入れには、物性や手技などで受け入れ条件を決める必要がある。被験物質の溶解性の判断基準を明確にすべきである。
- 4) SIRC においては他の細胞株との比較が必要である → 厚生労働科学研究バリデーション研究で細胞株間に差がないことを実証している。
- 5) SIRC においては測定指標の比較も必要である → 厚生労働科学研究バリデーション研究で MIT、クリスタルバイオレット、ニュートラルレッドなどの指標に差がないことを実証している。
- 6) SIRC においては培養液中の牛血清のロット差も結果に影響を及ぼすかもしれない → 比較対照物質との順位で比較することから血清のロット差は少ないと推察される。
- 7) 厚生労働科学研究バリデーション研究では、in vivo をすべて10%水溶液で実施している。過去の結果を検証し、適用時に分離しているような物質は解析から外すべきではないか。このような物質でも細胞毒性試験では血清の影響で溶解している場合があり、血清の作用から in vivo と異なる条件で適用されている物質があることの考慮が必要である。
- 8) MATREX の偽陰性の少なさは素晴らしい。10%水溶液のみでなく、原体の結果も含めても MAS15 での区別において偽陰性がない点は高く評価できる。被験物質が眼に近い適用がなされていると推察される。ICE の結果に類似している。ICE が OECD テストガイドラインに認められるならば、日本としては MATREX のガイドライン化を推進すべきではないかと考える。可能であれば、早急に JaCVAM 評価委員会で検討したい。
- 9) MATREX に関しては、標準物質としてのトリエタノールアミンの検証が必要である。
- 10) ウサギの眼における涙液層を考慮した代替法になっていないのではないかと → ウサギの眼に存在する涙液層を in vitro において厳密に反映させた試験法ではないが、in vivo で刺激がある物質に対して in vitro でもそれに対応した刺激評価値となっていることもあり、涙液層を考慮しなかったとしても利用方法によっては in vitro 試験法として成り立つのではないと思われる。
- 11) SIRC や MATREX に関しては偽陽性が多過ぎることが今後の課題である。優れた角膜モデルの開発

や日本動物実験代替法学会でバリデーション研究が進んでいる STE に期待したい。

- 1 2) 両方を組み合わせた場合の予測性は著しい改善がない。費用面などでの有用性は認識できるものの、特徴的な物質の予測が高まるなどの結果がない限り、医薬部外品の公的な評価方法としては推奨できないと考えるという意見があった。これに対して、培地に懸濁しない物質を除外する等、使用方法を限定して用いれば SIRC は 10% まで配合する原料に応用できるため有用であり、既にガイドライン案も出来ている。SIRC が溶解性により適用できない場合や 10% を超えて配合するような原料には MATREX が使用できると考えられ、両者を組み合わせることは意義がある。SIRC で陰性とはならず、あるいは試験できずに、MATREX で陰性と正しく判定される物質は多数存在する。簡便で安価な試験法を前段に置き、その試験で解決できないような場合に上位の試験を行うという流れは毒性試験の一般的な進め方に従っていると思われるという意見もあった。

3. その他

MATREX の厚生労働科学研究バリデーションに関する文献および報告書を全員に送ることを小島委員が約束した。分科会の報告書作成については、萩野委員と瀬戸委員が来年 1 月末までに行うことを確認した。その項目については、小島委員が送付するとされた。

次回の医薬部外品の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 眼刺激性分科会会議は平成 21 年 1 月 21 日に開催することが確認された。次回、瀬戸委員が BCOP や ICE の長短所、萩野委員が SIRC や MATREX の長短所をまとめて報告するように、小島委員から依頼がなされた。

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8回会議議事録

日時：平成21年1月21日（水）16:00-18:10

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）、森田（アイリス動物医療センター）、福家（医薬品医療機器総合調査機構）

以上順不同、敬称略

配布資料：

- 1) 第6回議事録
- 2) 日本動物実験代替法学会 第21回大会発表要旨
- 3) 日本動物実験代替法学会 第21回大会発表原稿
- 4) 分担報告書（萩野委員）
- 5) OECD ガイドライン案に関する資料
- 6) Proficiency standards for the ICE and BCOP test methods
- 7) 5th VMG meeting on retrospective validation of cytotoxicity/cell-function based in vitro assay (eye irritation)
- 8) Validation on the EpiOcular and SkinEthics HCE tests for acute eye irritation prediction
- 9) 医薬部外品の分類
- 10) OECD ガイドライン 406
- 11) 眼刺激性試験ガイダンス（大野案）

議事

1. 先回議事録確認および委員の追加

今回より、医薬品医療機器総合調査機構から福家さんに参加して頂くことになったと小島委員より紹介された。

2. 分担報告書の記載内容について

先回会議の誤った意思疎通で、萩野委員に細胞毒性試験に関する余分な報告書を作成させてしまったことを小島委員が詫言った。分科会報告書はこれまでの活動から、何を検討し、何が決まったかを報告するものであり、これまでの分科会では細胞毒性試験の長短所については議論されていない。瀬戸委員からも牛摘出角膜試験（BCOP）、鶏摘出眼球試験（ICE）に関する報告書を頂いたが、本件も長短所に関する意見交換はこれからと実施されると考えていると説明された。よって、これらを本会議の添付資料とはしないが、萩野委員および瀬戸委員が作成して下さった報告書は今後の議論に用いることになると説明された。

分科会の活動方針および報告書作成の確認事項として、

- 1) 本分科会は代替法の第三者評価を行う場ではない。第三者評価報告書をもとに試験法の長短所をまとめる。ただし、第三者評価が重複して進行している場合には、並行して実施する。
- 2) 代替法を含めた医薬部外品の安全性担保をどうするかが主題である。よって、代替法のみを検討してきたわけではない。既存試験法の歴史や長短所も検討してきた。眼刺激性に関しては、10年前に大野先生（国立衛研）が作成されたガイダンス案の検証、更新が目標である。

質疑応答にて、萩野委員および瀬戸委員から資料9を用いて、医薬部外品の範囲について質問があり、小島委員より、ポジティブリスト掲載を目的とした原料や医薬部外品主剤がメインであり、さらには添加剤も含め多くの範囲を対象としているとの見解がと示された。本件については、あり方検討会で再確認すると説明された。

2. OECD および ECVAM の状況

OECD では BCP や ICE のガイドライン化が進んでいるが、昨年末、ECVAM による回顧的なバリデーション研究によって推奨されたニュートラルレッド放出試験、蛍光物質放出試験が3月にはESACで認証される予定となった。培養角膜モデルのバリデーション研究が近々ECVAMで開始されるなどの情報が資料5~8を用いて小島委員より説明された。

SIRC や MATREX などの細胞毒性試験の第三者評価も含め、これらの試験法の日本における第三者評価にあたって、優先順位を決めることが重要との見解で一致した。

3. 学会報告

瀬戸委員より、資料2および3を用いて、日本動物実験代替法学会における発表内容が紹介された。質疑応答にて、眼刺激性は眼へのトラブルを想定しているのか、粘膜刺激性の予測も想定しているのかという質

問があり、質問者とは以後も議論を行ったと説明された。その結果として、眼粘膜は他の粘膜よりも弱く、これまでドレイズ試験を他の粘膜刺激性の評価のために用いているとの医薬品医療機器総合調査機構の見解が示された。業界でも同様なコンセンサスが取れているとの情報も紹介された。眼刺激性試験は単回適用であり、粘膜に連続使用する場合を予想するには不向きではないかとの質問もなされたが、そのような場合や眼刺激性が伴う場合には、口腔粘膜毒性試験が追加で要求されたことがあるとの情報も紹介された。

よって、本試験は眼を初めとする粘膜の単回適用を評価する試験法であり、点眼薬のような連続適用や蓄積性・透過性の配慮はなされていない試験であるという試験法の定義を分科会として確定し、これまで分科会で議論してきたように、ドレイズ試験の最大評価点 15 を代替法で概挿して評価する目的が確認された。

4. 報告書の内容

萩野委員が分担報告書(資料 4)の内容を読み上げ、記載内容を確認した。小島委員より、代替法を第一選択肢とすること、代替法を組み込んだ評価スキーム(大野ガイダンス:資料 11 を基本として)を今後、本格的に議論すると記載を加えるべく要望された。また、ウサギはヒトより感受性が高いことの記載については、OECD ガイドライン 405 (資料 10) パラグラフ 30 に記載があると紹介された。以前の分科会で、ヒトと比較してアルカリ物質ではウサギの眼刺激性は弱いとの見解が検討された件の記載については、ウサギの修復能が高いためという理由と予想され、報告書には記載しないことが確認された。

質疑応答にて、平野委員より SIRC や MATREX のような臨床的にはかけ離れている細胞毒性試験の結果がなぜ、ドレイズ試験結果と一致するのかという質問もなされ、角膜はバリア機能が弱く、直接的な細胞毒性が検出されやすいためではないかと説明された。

5. 今後の予定について

次回会議は平成 21 年 4 月 22 日(水) 16 時より名古屋にて開催される。細胞毒性試験や BCOP、ICH の長短所を検討することになった。

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
光関連毒性試験分科会第三回会議事録

日時：平成20年5月22日（木）15：00-17：15

場所：国立医薬品食品衛生研究所 第一会議室

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) 第2回議事録
- 2) in vitro 光毒性試験 3T3 NRU-PT 法の特徴
- 3) ICH 2007 Tokyo Proceedings
- 4) THE SCCP'S NOTES OF GUIDANCE FOR THE TESTING OF COSMETIC INGREDIENTS AND THEIR SAFETY EVALUATION 6TH REVISION
- 5) UV-induced effect, ATLA Vo. 33, suppl. 1, 131-146 (2005)
- 6) CTFA Safety Evaluation Guidelines, Evaluation of Photoirritation and photoallergy potential

議事

1. 先回議事録確認

前回の会議が3ヶ月前に開催されたこともあり、資料1に示す先回議事録を小島委員長が音読して内容を確認した。

2. 専門範囲報告

1) In vitro 3T3 NRU Phototoxicity の長短所

先回の宿題であった in vitro 3T3 NRU Phototoxicity の長短所について、今井委員より資料2を用いて説明があった。資料2の作成にあたり、厚生労働科学研究の報告書や資料6に示すCTFAの安全性試験ガイドラインを参考にしたとされた。

質疑応答において、以下の内容が議論された。

- ① 短所として挙げられた「光毒性の強弱を評価できない」に関しては、PIFで可能という意見や、PIFでは評価できないという意見があり、見解が分かれた。動物実験の刺激性強度とPIFの順列の比較が必要である。
- ② UV吸収剤の細胞毒性試験の上限濃度は100μg/mLと文献にはあるが、ガイドライン等には記載されていない。
- ③ 短所として挙げられた「被験物質が水溶液である必要がある」において、水溶液でない場合、評価しづらいことはともかく、正確でないとか、評価できなかった例はあるのか。
- ④ 短所として挙げられた「代謝など光毒性に対する間接的な作用を検出できない」に関しては、動物実験による代謝で検出された例はあるのか。
- ⑤ 比較対照として、動物試験の長短所もまとめるべきである。
- ⑥ 長所にはコスト削減を記載すべきである。
- ⑦ 短所として、偽陽性が多いとの記載が必要である。また、長所として偽陰性が少ないも挙げられた。これに対して、偽陽性とは閾値の設定や見解の問題であり、何らかの反応があることに間違いのないとの意見も示された。
- ⑧ 試験法の概要として、「細胞、光源や陽性対照の選択など背景データが必要である」との記載は必要である。
- ⑨ 陽性対照物質は、試薬として購入し続けられるものかどうかの調査が必要である。

以上の質疑応答を考慮して、in vitro 3T3 NRU Phototoxicity の長短所を再構築するとともに、試験法の概要を作成することになった。資料2の内容は資料からの抜粋であり、質問の回答は不明と今井委員から説明された。これに対して、今後の調査によって事実をもとにした長短所としてまとめるべきであるとの意見が示された。また、試験法の概要はOECDガイドラインの範疇でよく、あまり細かくすべきでないと言われた。次回までに今井委員が案を作成するものの、メール等で意見を寄せることが確認された。

2) 代替法の利用について

光毒性の評価における動物実験代替法（以後、代替法と記す）の利用にあたり、(1) *in vitro* のみ、(2) *in vitro*+動物実験、(3) 動物実験のみの選択肢が例として挙げられ、本分科会の推奨する選択肢について意見交換した。

EU の状況から (1) だけでも良いとの意見もあったが、化粧品や医薬部外品の機能性が叫ばれる昨今、リスク評価のために動物実験は必要との見解が多く、(2) を押す声が多かった。ただし、(2) の場合でも *in vitro* と動物実験の並列表記でなく、「*in vitro* で評価できる物質は *in vitro* 試験を優先して行い、陰性であれば光毒性はないと判断してよい」などの文言を入れることになった。

3) 光感作性の調査について

小島委員より、光感作性試験の必要性についての議論の提案があった。

資料 4 および 5 に示すように、EU では化粧品原料の安全性試験として光感作性試験の項目がない。よって、光感作性試験の代替法を欧州では開発する必要がない。日本でバリデーションを行わない限り、モルモットを使い続けることになるが、本来、この試験法は有用であったか？光アレルギー物質は光毒性物質として検出されるのではないか。光毒性がなく、光アレルギーがある物質はあるのか、光感作性のある物質も少なく、代替法の開発は必要かと小島委員より疑問が呈された。上出委員からも紫外線による免疫抑制を考慮すると、LLNA の応用による代替法の開発は難しいとの見解も示された。

また、上出委員より、光アレルギーのみを示す物質は稀であり、ムスクアンブレット、ハロゲン化フェノール、オキシベンゾン、PABA、ピロキシカムなどが光アレルギーのみおよび交差反応を示す例として挙げられた。これらを含めて、光感作性物質およびその検出試験の必要性について調査すると小島委員から説明された。

ただし、安全・安心嗜好が高まっている昨今、安全性試験法を減らすことに関しては抵抗感が強いとの見解が多くの委員より示された。光アレルギーの専門家である産業衛生大学 戸倉教授等の意見も聞く必要があるとの意見もあった。

3. その他

資料 3 を用い、ICH でも臨床試験のタイミングにおいて、光毒性試験をどこで実施するか検討中であるとの情報が小島委員より紹介された。

次回会議は、平成 20 年 7 月 24 日 (木) 15 時から、国立衛研において開催されることになった。主に、*in vitro* 3T3 NRU Phototoxicity の概要、長短所について意見交換することになった。

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
光関連毒性試験分科会第4回会議次第

日時：平成20年7月24日（木）15：00-17：00

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) 第3回議事録
- 2) *in vitro* 光毒性試験 3T3 NRU-PT 法の特徴
- 3) 大野泰雄、まとめ、AATEX, 10(2) 126-132 (2004)
- 4) THE SCCP'S NOTES OF GUIDANCE FOR THE TESTING OF COSMETIC INGREDIENTS AND THEIR SAFETY EVALUATION 6TH REVISION
- 5) CTFA Safety Evaluation Guidelines, Evaluation of Photoirritation and photoallergy potential
- 6) 杉山真理子、眼刺激性試験代替法、非臨床試験マニュアル (2001)
- 7) 化粧品・医薬部外品 製造販売ガイドブック (2006)
- 8) 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)
- 9) あり方検討会分科会報告書に記載すべき項目について
- 10) 光毒性評価委員会メンバー
- 11) ガイドライン案

議事

1. 先回議事録確認

資料1に示す先回議事録の主要部分を小島委員が通読し、本会での検討事項について確認した。議事録の修正に関する意見はなかった。

2. 3T3 NRU 法の最終評価と報告書の作成について

今井委員より、資料11に示すガイドライン案が配布され、先回会議で合意を得た *in vitro* 試験の優先実行を促すために、「*in vitro* 光毒性試験で光毒性が疑われた場合には、動物の個体を用いた *in vivo* 試験にて確認することができる」との文言を入れたと紹介があった。次に、試験法の概略について意見交換を行い、OECD ガイドライン 432 参照と書くだけでなく、概要を記載したと説明された。これは資料7および8に示す現行の記載内容に近く、必要であるとの見解が体勢を占めた。

データの質を確保するため試験成立条件を定めることになり、食薬センター秦野研究所の報告書をもとに、試験の成立条件を田中委員より提案頂くことになった。

資料11に示す課題については、まず本試験の重要なポイントである光源、照射強度について意見交換した。GLP による機器管理の必要性、照射エネルギーを測定する detector の定期的な校正、照射機器のチェック項目（スペクトラム分布の把握、UVB・UVA および可視光のエネルギー量測定の可否、ランプ寿命の記録など）を試験の成立条件に入れるべきかについて議論した。最終的には、GLP で管理せずとも、機器購入時のスペクトラム分布の保管（ランプが劣化してもこの分布は変化しない：上出委員コメント）、detector の定期的な校正、ランプの使用時間の記録（ランプの劣化により照射エネルギー量が落ちるため）および陽性対照物質による背景データの蓄積により、光源の質は確保できるとの意見で合意した。

その他の試験法の短所としては、強弱の評価については詳しく触れず、非水溶性物質については「正確なデータを得にくい可能性がある」との記載に留めることになった。この表現については、酵母・赤血球試験の第三者評価において、偽陰性と水溶性についての検討した後に、より踏み込んだものにするか決めたいと小島委員より説明された。偽陽性が多いという点については、陽性基準と強弱との関係が不明であることや、*in vitro* 反応が何らかの生体反応を捉えている可能性があり、短所ではないとの言及もあった。

これら試験法の短所については、報告書には引用を加えて列記してほしいと小島委員から要望が示された。報告書案については、資料9に示す必要項目を参考に、先回に検討した資料2および3T3 NRU 法について記載のある関連資料3～6などを利用して、今井および森委員で作成して頂くことになった。この案をもとに委員間のメールで意見交換し、年内に報告書を確定してほしいとされた。

最後に、行政的な試験への受入れの立場で、資料 9 に示す受入れ基準について意見交換し、本試験法はハザード同定に適した方法として、非水溶性物質の評価に疑問が持たれるものの、その他の項目には合致し、代替法として受入れられると判断された。

3. その他

- ・日本動物実験代替法学会において、あり方検討会に関する発表時間を大会長から頂いた。光関連毒性については、今井先生に演者をお願いしたと小島委員より紹介があった。
- ・光毒性試験として資生堂により開発され、バリデーションが終了している酵母・赤血球試験法の第三者評価委員を決定したと資料 10 を用いて小島委員より紹介があった。
- ・次回会議の開催日程は未定である。

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5回議事録

日 時：平成21年1月7日（水）15：00-17：15

場 所：国立医薬品食品衛生研究所 第一会議室

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、荒島（ノエビア）、今井教安（コーセー）、小島 肇（国立衛研）

オブザーバー：藤野隆介、福家さゆり（医薬品医療機器総合調査機構） 以上順不同、敬称略

配布資料：

- 1) 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－光関連毒性分科会報告－
- 2) 日本動物実験代替法学会 第21回大会特別企画 発表原稿
- 3) 報告書作成にあたって再度コンセンサスをとるべき議事(今井案)

議事

1. はじめに

本年より、すべての分科会に医薬品医療機器総合調査機構からオブザーバーとして参加して頂けることになったと小島委員より説明があり、藤野氏と福家氏が紹介された。また、ノエビアの森氏に代わり、今後、荒島氏が参加すると紹介された。改めて全員が自己紹介を行った。

2. 光関連毒性分科会の報告書について

今井委員および森委員より配布された資料1に示す報告書案を今井委員が読み上げた。田中委員より、この報告書の位置付けについて質問があり、小島委員からあり方検討会の議論に用いるとともに、厚生労働科学研究の本年度報告書に添付すると説明がなされた。

報告書内容の大きな論点として、以下の問題点が挙げられ、それぞれについて意見交換を行った。

1) 光の定義について

化粧品・医薬部外品製造販売ガイドブックでは、紫外部との記述があるが、OECDガイドラインに準じ、紫外部だけでなく、可視部の吸収物質についても光毒性試験が必要ではないかという議論があった。検討の際には、ポルフィリンの吸収極大が405nmである（上出委員）こと等への配慮が示唆された。吸収の有無については、極大の有無で判断する。

2) 3T3 NRU-PT法で適用できる被験物質の範囲について

試験実施上で妥当あるいは適切な被験物質の範囲については詳細に記載しない。フローチャートにおいても、まず3T3 NRU-PT法の実施を促し、その結果や過程で妥当性を判断させるものとする。

3) 3T3 NRU-PT法で陰性となった場合の判断

過去のバリデーション研究結果から、動物実験と比較して偽陰性は認められていない。よって、3T3 NRU-PT法の結果が陰性ならば以降の実験を省略できることとする。ちなみに、陽性の場合には動物実験を含むその他の試験法で確認する。

4) その他

① 3T3 NRU-PT法の長所から、「EUでは法規制上受け入れられている」を除き、別の項に移す。引用文献をEUの資料とする。

② UV強度計に求められる資料としては、機器型番、メーカー名、校正日とする。

③ 光毒性試験については、2007年9月よりEU域内で動物実験が禁止となっているという引用文献を探す。

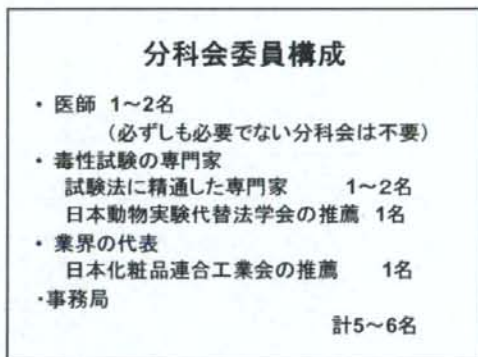
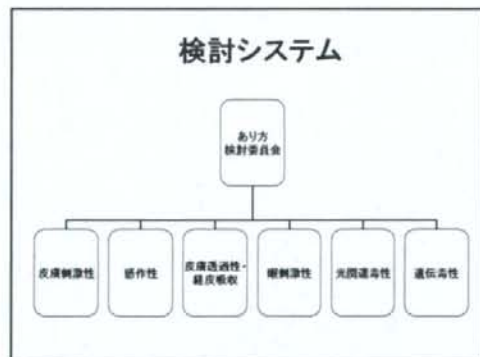
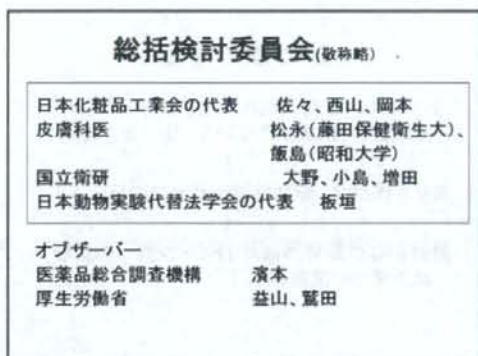
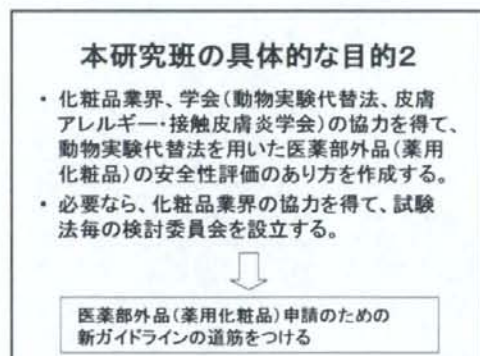
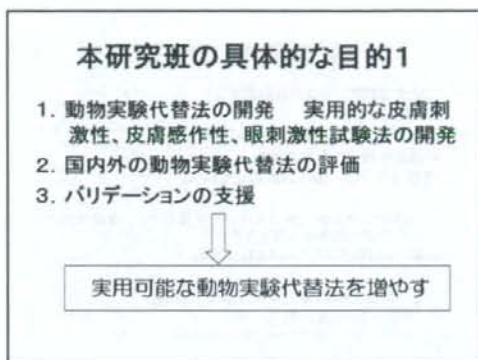
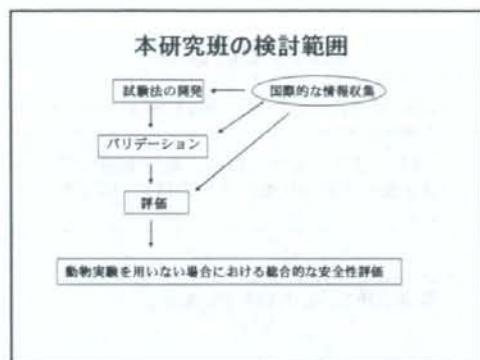
④ 陽性対照物質であるシクロプロマジンの購入が容易であるか調査する。

以上の意見交換を受け、結論または調査結果を報告書案に追記することになった。修正報告書は今井委員により早急に作成され、委員全員に回覧後、1月末までに小島委員に提出することになった。

3. その他

・次回会議の開催日程は未定である。小島委員より、あり方検討会や酵母膜破壊試験および赤血球溶血試験バッテリーの第三者評価の進捗に合わせて召集すると説明された。

以上



各分科会の役割

- ・ 試験法の経緯、歴史を再認識する
- ・ 国際動向を調査する
- ・ 動物実験代替法の動向を把握する
- ・ 試験法の関連性を考慮する
代替法からヒト試験、国民の安全確保
↓
- ・ 分担毎に動物実験代替法を用いた医薬部外品(薬用化粧品)の安全性評価のあり方案を作る
- ・ 必要なら評価ストラテジーを作成する

厚生労働科学研究報告書にまとめる
可能なら、論文投稿

これまでの成果

- ・ これから6名の分科会代表者に概要を説明して頂きます。

主に、種々の安全性試験に動物実験代替法を受け入れられるか否かの提案がなされます。

- ・ さらに、パネルディスカッションで会場内との意見交換を行いたいと思います。

来年度の予定

各分科会が動物実験代替法を受け入れられると決定した試験法について、使い方を提案

↓

あり方検討会 総括検討委員会で検証

↓

最終的な医薬部外品ガイドライン案への試験法見直しの提言作成

第21回 日本動物実験代替法学会
08/11/14 特選企画

医薬部外品の製造承認申請における安全性に
関する資料のあり方検討会報告
—皮膚刺激性分科会における検討について—

1. これまでの検討状況
2. 検討方針
3. 対象となる代替法
4. 今後の課題

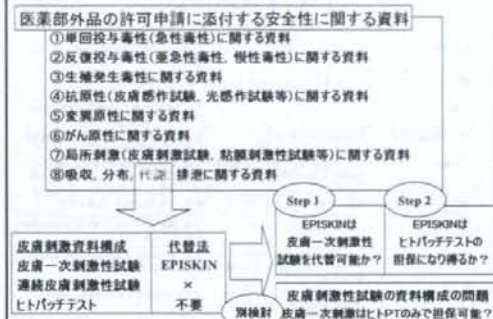
分科会委員

河合 敬一	河合敬一皮膚科医院	皮膚科医
小島 肇	国立医薬品食品衛生研究所	JaCVAM 検討会本体
杉山 真理子	榊資生堂	代替法学会
寒水 孝司	大阪大学 臨床医工学融合 研究教育センター	統計専門家
辰見 寿	サンスター㈱	化粧品
夏秋 優	兵庫医科大学 皮膚科	皮膚科医
森 福義	榊ポーラ	化粧品
中野 節子	日本ロレアル㈱	EPISKIN 開発元

刺激性分科会 会議開催経緯

- 第1回会議 2007/10/4
 ○あり方検討委員会発足の背景と分科会目的・役割説明
 ○動物実験代替法の現状と将来に関する説明
 ○分科会の道のり
 第2回会議 2007/12/15
 ○皮膚刺激性データベース作成における必要項目の確認
 第3回会議 2008/3/1
 ○検討方針の変更に関する説明 → 皮膚一次刺激性代替としてのEPISKIN
 ○分科会の検討方針確認 → 皮膚刺激性評価法の評価項目の検討が必要
 第4回会議 2008/4/20
 ○分科会の検討方針再確認
 ○EPISKINの説明
 第5回会議 2008/7/3
 ○繊維製品の皮膚一次刺激性試験方法としての培養皮膚モデル法の説明
 JIS L 1918F繊維製品の皮膚一次刺激性試験方法—培養ヒト皮膚モデル—
 ⇒本分科会では検討対象としない
 第9回会議 2008/10/9
 ○皮膚刺激性試験代替法第三者評価会議との合同
 ESAC 皮膚刺激性in-vitro試験の妥当性に関する声明書の解析

検討方針



対象となる代替法

⇒ 現時点では、公的に認められたのは事実上EPISKINのみ

試験法	動き
EPISKIN	2007/4/27ECVAM承認 ⇒ ESAC 認証 2007/12/18 SCDP発給 EPISKINを承認するが、Annexに書かれるような化粧品原料の評 価の不足と急慢性、発毛剤の権限不足を指摘 2008/6/8 OECDの「ラッシュ」のコメント募集開始 1/3の分科会では、ヘアケアのコメントを募集中との案内あり また、米国が試験材料の選択について反対しているとの情報あり
EpiDerm	2004年公式バリデーション実施 ⇒ EDVAM採択されなかった 2008年に再バリデーションが終了し、EDVAMにて再評価中 OECDの「ラッシュ」に記載あり
LabCyte EPI-MODEL24	日本動物実験代替法学会にて、バリデーション開始(me-too試験)
繊維製品の皮膚一次 刺激性試験方法 培養ヒト皮膚モデル	JIS L 1918F繊維製品の皮膚一次刺激性試験方法—培養ヒト皮 膚モデル—の登録はあるが、実際には利用されていない

今後の検討課題

●目的が異なる

EU: 刺激物であるか否かの鑑別(R38 ラベル評価)

日本: 申請対象の医薬部外品の皮膚刺激性の程度を知り、皮膚傷害の防止に役
立てる(安全性確認)

⇒ ヒトにおける皮膚刺激反応の程度予測

●比較vivo試験(皮膚一次刺激性試験)の試験条件が異なる

EPISKINのECVAMバリデーションにおけるin vivo比較γ-9は、医薬部外品の皮膚一
次刺激性試験と試験条件が異なる。

試験条件の比較(部分)

	(OECD TG46) ⇒ R38	部外品申請試験法
投与濃度	原液、濃度物質は溶解せず、溶解の場 合は僅かな水で薄らげて長く接触するよ うにする。	原液、皮膚一次刺激性を減弱に評価するしめ 物刺激性を許す濃度が決められるに濃度 固定
投与方法	原液、48時間の閉塞(3×3cm)	原液、24時間の開放または閉塞封材

今後の検討課題(続き)

●被験物質の構成の問題

化粧品原料のような弱い刺激性の物質の評価ができるかどうか不明

●取り入れ方と不足データ

①比較vivo試験を部外品申請試験法(ウサギまたはモルモット、24時間閉塞)とした場合のEPISKINとの相関性の検討

ECVAM/リデーション被験物質の皮膚一次刺激性試験結果(部外品申請試験法)の調査

EPISKINの既存データの再調査(24時間閉塞法データをロレアルに依頼)

EPISKINの試験条件再検討 ⇒ ESAC認証は試験条件がセットなので×

試験条件の違いにより、反応性には多少なる可能性が大きい
 *Overview of animal test methods for skin irritation, Food Chem Toxicol, 1999
 44 composite model for multiple assays of skin irritation, Toxicol Ind Health, 1999

②そのままの条件で(適用濃度、適用時間、カットオフライン)EPISKINで得られる知見から、パッチテストに移行する方法を検討する

⇒ ヒパフナチの実施方法を含め、皮膚刺激検出のためのスキームが必要

以下、参考資料

GHSと部外品試験法の 試験条件の比較

化粧品、部外品申請
 製造番号307-41004
 2/25改訂

	(OECD404) ⇒ GHS(基準)	部外品申請試験法*
試験動物	原則若齢白色ウサギ	原則、若齢白色ウサギ又は若齢白色モルモット
動物数	Initial Test 1匹—Confirmation Test 2匹まで	原則、1群3匹以上
皮膚		脱毛または皮膚、むけ、損傷皮膚での使用を許さずする場合、損傷皮膚でも実施
投与面積および用量	6.5g又は10.5cm ² /6cm ²	皮膚一次刺激性を適切に評価しうる面積および用量(原則、6.5cm ² /6cm ²)
投与濃度	原則、濃度物質は右側投与、30%の場合には左から右で投与して左(投与する)とする	原則、皮膚一次刺激性を適切に評価するため、刺激性を必ず濃度が与えられるように濃度階級を設定
投与方法	原則、4時間閉塞(3-4パッチ)	原則、24時間閉塞又は閉塞助付
投与後の処置		原則、無処置とするが、必要に応じて洗浄等の操作を行ってもよい
観察	原則、投与後24、48および72時間に投与部位の肉眼的観察を行う(1回毎観察の必要1462で)	原則、投与後24、48および72時間に投与部位の肉眼的観察を行う
試験結果の評価	刺激と評価により判定し、判定値から Irritant/Category2/2 EMIH Irritant (Category3) に評価	皮膚一次刺激性を適切に評価し得る判定値により判定する