

- 11) ToxRTool - Toxicological data Reliability Assessment Tool (<http://ecvam.jrc.it/index.htm>)
  - 12) H. J. Klimisch, et. Al., A systematic Approach for Evaluating the Quality of Experimental Toxicology and Ecotoxicological Data. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 25, 1-5, 1997
  - 13) Federal Register, 69, 61504, 2004
  - 14) Casati, S. et al. Preliminary (Phase I) Results of a Validation Study to Evaluate the Reliability and Relevance of Two *In vitro* Cytotoxicity Assays for Predicting Rodent and Human Acute Systemic Toxicity, 41st Congress of the European Societies of Toxicology EUROTOX 2003, 2003
  - 15) Strickland, J. A. et al., Data Collection and Analysis Systems for an *In vitro* Cytotoxicity Validation Study, Society of Toxicology 43rd Annual Meeting, *The Toxicologist*, 50, 2004
  - 16) Stokes, W. S. et al., Results of the final phase of a validation study to evaluate *in vitro* cytotoxicity assays for estimating rodent acute systemic toxicity, *ALTEX*, 22, Special Issue, Abstracts 5th World Congress 2005, 196, 2005
  - 17) Background Review Document: *In vitro* Cytotoxicity Test Methods for Estimating Acute Oral Systemic Toxicity, NIH Publication No. 07-4518, November 2006
  - 18) ICCVAM Test Method Evaluation Report: *In vitro* Cytotoxicity Test Methods for Estimating Starting Doses for Acute Oral Systemic Toxicity Testing, NIH Publication No. 07-4519, November 2006
  - 19) [http://iccvam.niehs.nih.gov/SuppDocs/FedDocs/FR/FR\\_E8\\_5936.pdf](http://iccvam.niehs.nih.gov/SuppDocs/FedDocs/FR/FR_E8_5936.pdf)
  - 20) The U. S. Environmental Protection Agency's Strategic Plan for Evaluating the Toxicity of Chemicals (<http://www.epa.gov/osa/spc/toxicitytesting/>)
  - 21) DRAFT GUIDANCE DOCUMENT ON USING CYTOTOXICITY TESTS TO ESTIMATE STARTING DOSES FOR ACUTE ORAL SYSTEMIC TOXICITY TESTS  
(<http://www.oecd.org/dataoecd/17/0/43325517.pdf>)
  - 22) OECD GUIDANCE DOCUMENT FOR THE DERIVATION OF AN ACUTE REFERENCE CONCENTRATION (ARFC)  
(<http://www.oecd.org/dataoecd/2/7/43505637.pdf>)
  - 23) 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 (<http://www.pmda.go.jp/operations/notice/2006/file/jimu20060719.pdf>)
  - 24) The CTFA Safety Evaluation Guidelines, 2007
- 皮膚毒性 (C-5-2) 関連
- 1) Basketter, D. A. et al., Predictive testing in contact dermatitis: irritant dermatitis, *Clinics in Dermatology*, 15, 637, 1999
  - 2) York, M. et al., Evaluation of a human patch test for the identification and classification of skin irritation potential, *Contact Dermatitis*, 34, 204, 1996
  - 3) Van de Sandt, J. et al., The use of human keratinocytes and human skin models for predicting skin irritation, *ATLA*, 27, 723 1999
  - 4) ECVAM, Statement of the ECVAM Science Advisory Committee (ESAC) on the Validity of *in Vitro* Tests for Skin Irritation, 2007 <http://ecvam.jrc.it/index.htm>
  - 5) SCCP/1145/07, Memorandum on the *in vitro* test episkin™ for skin irritation testing, adopted by the SCCP during the 14<sup>th</sup> plenary meeting on 18 December 2007
  - 6) ECVAM, Statement of the ECVAM Science Advisory Committee (ESAC) on the Validity of *in Vitro* Tests for Skin Irritation Testing, 2008 <http://ecvam.jrc.it/>
  - 7) OECD, OECD GUIDELINE FOR THE TESTING OF CHEMICALS: *In Vitro* Skin Irritation: Reconstructed Human *Epidermis* (RhE) Test Method,

- <http://www.oecd.org/dataoecd/1/59/43664841.pdf>
- 8) 小島肇ら, 培養皮膚モデル LacCyte EPI-MODEL24 を用いた皮膚刺激性試験代替法のバリデーション研究, 第 22 回日本動物実験代替法学会学術大会講演要旨集, 146, 2009.
  - 9) Katoh M. et al., Assessment of human epidermal model LacCyte EPI-MODEL for *in vitro* skin irritation testing according to European Centre for the Validation of Alternative Methods (ECVAM) - validation protocol, The Journal of Toxicological Sciences, 34, 327, 2009
  - 10) Spielmann, H. et al., *In vitro* phototoxicity testing: The report and recommendations of ECVAM Workshop 2., ATLA, 22, 314, 1994
  - 11) 森眞輝ら, *In vitro* 光毒性試験の動物実験代替法としての Yeast-RBC アッセイの開発の提案, 第 33 回日本環境変異原学会第 18 回日本動物実験代替法学会合同学術大会講演要旨集, 84, 2004
  - 12) 田中憲穂ら, 酵母光生育阻害試験及び赤血球光溶血試験を用いた光毒性: バッテリーのバリデーション及び評価委員会での検討中間報告, 第 33 回日本環境変異原学会第 18 回日本動物実験代替法学会合同学術大会講演要旨集, 85, 2004
  - 13) 吉村功ら, 酵母-赤血球試験の光毒性試験代替法としてのバリデーション研究, 第 33 回日本環境変異原学会第 18 回日本動物実験代替法学会合同学術大会講演要旨集, 86, 2004
  - 14) Lelièvre D. et al., The Episkin Phototoxicity Assay (EPA): Development of an *in vitro* Tiered Strategy using 17 Reference Chemicals to Predict Phototoxic Potency, Toxicol. *in vitro*, 21, 977, 2007
- 眼刺激性 (C-5-3) 関連
- 1) Kay, J. H. and Calandra, I. C., Interpretation of eye irritation tests, J. Soc. Cosmetic Chem., 13, 281, 1962
  - 2) OECD Test No. 437: Bovine Corneal Opacity and Permeability Test Method for Identifying Ocular Corrosives and Severe Irritants, <http://www.oecdilibrary.org/oecd/content/book/9789264076303-en>
  - 3) OECD Test No. 438: Isolated Chicken Eye Test Method for Identifying Ocular Corrosives and Severe Irritants, <http://www.oecdilibrary.org/oecd/content/book/9789264076310-en>
  - 4) SCCS Memorandum on Alternative Test Methods in Human Health Safety Assessment of Cosmetic Ingredients in the European Union, [http://ec.europa.eu/health/scientific\\_committees/consumer\\_safety/docs/sccs\\_s\\_001.pdf](http://ec.europa.eu/health/scientific_committees/consumer_safety/docs/sccs_s_001.pdf)
  - 5) Independent Scientific Peer Review Panel Report: Evaluation of the Validations Status of Alternative Ocular Safety Testing Methods and Approaches, [http://iccvam.niehs.nih.gov/docs/ocutox\\_docs/OcularPRPRept2009.pdf](http://iccvam.niehs.nih.gov/docs/ocutox_docs/OcularPRPRept2009.pdf)
  - 6) <http://ecb.jrc.it/DOCUMENTS/Testing-Methods/ANNEXV/B05web2004.pdf>
  - 7) [http://europa.eu.int/comm/health/ph\\_risk/committees/sccp/documents/out173\\_en.pdf](http://europa.eu.int/comm/health/ph_risk/committees/sccp/documents/out173_en.pdf)
  - 8) Gilleron, L. et al., Evaluation of a modified HET-CAM assay as a screening test for eye irritancy, Toxicol. *in vitro*, 10, 431, 1996
  - 9) Statement on the scientific validity of cytotoxicity/cell function based *in vitro* assays for eye irritation testing, [http://ecvam.jrc.it/publication/ESAC31\\_CBA\\_eye-irritation\\_20091005.pdf](http://ecvam.jrc.it/publication/ESAC31_CBA_eye-irritation_20091005.pdf)
  - 10) Scott, L. et al., A proposed eye irritation testing strategy to reduce and replace *in vivo* studies using Bottom-Up and Top-Down approaches, Toxicol. *in vitro*, 24, 1, 2010
  - 11) 眼刺激性試験代替法の第三者評価報告書 評価対象試験: 眼に対する腐食性及び強刺激性評価のためのウシ摘出角膜の混濁及び透過性試験法
  - 12) 眼刺激性試験代替法の第三者評価報告書 評価対象試験: 眼に対する腐食性及び強刺激性評価のためのニワトリ摘出眼球を用いた眼刺激性試験法
  - 13) <http://www.jacvam.jp/effort/index.html>
  - 14) 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報告

要旨集

- 15) <http://www.colipa.eu/safety-a-science/alternative-methods-/priorities-for-research-on-alternative-methods-.html>
- 16) Ohno, Y. et al., Interlaboratory validation of the *in vitro* eye irritation tests for cosmetic ingredients. (1) Overview of the validation study and Draize scores for the evaluation of the tests, *Toxicol. in vitro*, 13, 73, 1999
- 17) Hagino, S. et al., Interlaboratory validation of *in vitro* eye irritation tests for cosmetic ingredients. (2) Chorioallantoic membrane (CAM) test, *Toxicol. in vitro*, 13, 99, 1999
- 18) Tani, N. et al., Interlaboratory validation of *in vitro* eye irritation tests for cosmetic ingredients. (8) Evaluation of cytotoxicity tests on SIRC cells, *Toxicol. in vitro*, 13, 175, 1999
- 19) Chiba, K. et al., Interlaboratory validation of *in vitro* eye irritation tests for cosmetic ingredients. (9) Evaluation of cytotoxicity test on HeLa cells, *Toxicol. in vitro*, 13, 189, 1999
- 20) Okumura, H. et al., Interlaboratory validation of *in vitro* eye irritation tests for cosmetic ingredients. (10) Evaluation of cytotoxicity test on CHL cells, *Toxicol. in vitro*, 13, 199, 1999
- 21) Uchiyama, T. et al., Interlaboratory validation of *in vitro* eye irritation tests for cosmetic ingredients. (7) Evaluation of cytotoxicity test by Corneal PackR, *Toxicol. in vitro*, 13, 163, 1999
- 22) Okamoto, Y. et al., Interlaboratory validation of *in vitro* eye irritation tests for cosmetic ingredients. (3) Evaluation of the haemolysis test, *Toxicol. in vitro*, 13, 115, 1999
- 23) Ohuchi, J. et al., Interlaboratory validation of *in vitro* eye irritation tests for cosmetic ingredients. (6) Evaluation of MATREXTM, *Toxicol. in vitro*, 13, 153, 1999
- 24) Matsukawa, K. et al., Interlaboratory validation of *in vitro* eye irritation tests for cosmetic ingredients. (11) Evaluation of EYETEXTM, *Toxicol. in vitro*, 13, 209, 1999
- 25) Hatao, M. et al., Interlaboratory validation of *in vitro* eye irritation tests for cosmetic ingredients. (4) Evaluation of haemoglobin denaturation test, *Toxicol. in vitro*, 13, 125, 1999

皮膚アレルギー性 (C-5-4) 関連

- 1) Yamashita, K. et al., (2005) Development of a modified local lymph node assay using ATP measurement as an endpoint. *AATEX* 11, 136-144.
- 2) Takeyoshi, M. et al., (2001) Development of non-radio isotopic endpoint of murine local lymph node assay based on 5-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) incorporation. *Toxicol. Lett.* 119, 203-208.
- 3) <http://iccvam.niehs.nih.gov/methods/immunotox/rLLNA.htm>
- 4) Gerberick, G.F. et al., (2007) Quantification of chemical peptide reactivity for screening contact allergens: a classification tree model approach. *Toxicological sciences*, 97, 417-427.
- 5) Ashikaga, T. et al., (2006) Development of an *in vitro* skin sensitization test using human cell lines; human Cell Line Activation Test (h-CLAT). I. Optimization of the h-CLAT protocol. *Toxicology in vitro*, 20, 763-773.
- 6) Sakaguchi, H. et al., (2006) Development of an *in vitro* skin sensitization test using human cell lines; human Cell Line Activation Test (h-CLAT). II. An inter-laboratory study of the h-CLAT. *Toxicology in vitro*, 20, 774-784.
- 7) Ovigine, J.M. et al., (2007) The U937/CD86 harmonized *in vitro* assay protocol for the prediction of skin sensitization potential moving towards a COLIPA ring study. 6th World Congress on Alternatives to Animal Testing, 247.
- 8) 相場節也ら, 免疫毒性試験: ヒト細胞を用いたレポーター遺伝子アッセイ系の開発, 第22回日本動物実験代替法学会総会・学

- 術大会要旨集, 48-49, 2009.
- 9) OECD guidelines for testing of chemicals, 429, Paris, OECD, 2002.
  - 10) 新規試験法提案書 皮膚感作性試験代替法(LLNA-DA法) 平成20年11月 国立医薬品食品衛生研究所
  - 11) <http://www.jacvam.jp/effort/index.html>
  - 12) [http://iccvam.niehs.nih.gov/docs/immuno tox\\_docs/LLNAPRPRpt2009.pdf#pagemo de=bookmarks](http://iccvam.niehs.nih.gov/docs/immuno tox_docs/LLNAPRPRpt2009.pdf#pagemo de=bookmarks)
  - 13) [http://www.oecd.org/document/55/0,334 3,en\\_2649\\_34377\\_2349687\\_1\\_1\\_1\\_1,00.html](http://www.oecd.org/document/55/0,334 3,en_2649_34377_2349687_1_1_1_1,00.html)
  - 14) <http://iccvam.niehs.nih.gov/SuppDocs/FedDocs/FR/FR-E9-23534.pdf>
  - 15) <http://www.oecd.org/dataoecd/33/59/44 279511.pdf>
  - 16) Nukada Y. et al., (2009) Current database of the *in vitro* skin sensitization test; human Cell Line Activation Test (h-CLAT). *Alternatives to animal experimentation*, 26, spec. issue, 351.
  - 17) <http://www.asas.or.jp/jsaae/info/2010 0120ws.html>
  - 18) Hoya, M. et al., (2009) Development of an *in vitro* photosensitization assay using human monocyte-derived cells. *Toxicology in vitro*, 23, 911-918.
- 変異原性 (C-5-5) 関連
- 1) OECD GUIDELINE FOR THE TESTING OF CHEMICALS DRAFT PROPOSAL FOR A NEW GUIDELINE 487: *In vitro* Micronucleus Test  
<http://www.oecd.org/dataoecd/33/22/37 865944.pdf>
  - 2) Fairbairn DW. et al., (1995) The comet assay: a comprehensive review., *Mutat Res.*, 339 (1) :37-59.
  - 3) 小島 肇 JaCVAM の昨今の動向、第20回 日本動物実験代替法学会要旨集, 41-42.
  - 4) ICH Public Conference, ICH Japan Symposium, Tokyo, Japan, June 12, 2009
- 反復投与毒性 (C-5-6) 関連
- 1) <http://www.healthncpnet.eu/jahia/Jahia/site/health-ncp-net/lang/en/pid/15 3>
  - 2) <http://ecvam.jrc.it/publication/ECVAM%20Technical%20Report%202006-200 7%20final.pdf>
  - 3) <http://www.predictomics.com/>
  - 4) <http://ecvam.jrc.it/index.htm>
- 生殖発生毒性 (C-5-7) 関連
- 1) <http://ecvam.jrc.it/index.htm>
  - 2) <http://www.reprotect.eu>
  - 3) <http://ecvam.jrc.it/publication/ECVA M%20Technical%20Report%202006-2007%20 final.pdf>
  - 4) Schwarz, M., Dencker, L., Lazzari, G., Mantovani, A. And Spielmann, H. (2009) The PeProTect project, *ALTEX*, 26, Spec. Issue, 175.
  - 5) Akita, M. (2008). Current status and future progress of reproductive/developmental toxicity test. *Yakugaku Zasshi* 128 (5), 765-772.
  - 6) 齋藤幸一, 鈴木紀之, 安藤覚, 堀江宣行 (2009) 発生毒性試験の代替法開発: 1) ES細胞を用いたレポータージーンアッセイの開発, 日本動物実験代替法学会第22回大会要旨集, 大阪, 50, 51.
  - 7) 秋田正治, 石塚典子, 横山篤 (2009) 胎児培養法の改良, 日本動物実験代替法学会第22回大会, 大阪, 52, 53.
  - 8) <http://lysander.sourceoecd.org/vl=14 067300/cl=35/nw=1/rpsv/ij/oecdjournal s/1607310x/v1n4/s58/p1>
  - 9) 小島肇, 動物実験代替法に関する2008年の国際動向. *フレグランスジャーナル* 1月号, 65-69, 2009.
- 経皮吸収性 (C-5-8) 関連
- 1) OECD guidelines for testing chemicals, 427, Paris, OECD (2004)
  - 2) OECD guidelines for testing chemicals, 428, Paris, OECD (2004)
  - 3) [http://ec.europa.eu/health/ph\\_risk/committees/04\\_sccp/docs/sccp\\_o\\_02j.pdf](http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_sccp/docs/sccp_o_02j.pdf)
  - 4) Fujii M. et al., Review of an alternative to animal testing for safety evaluation of cosmetic ingredients using Quasi-drug-Skin permeation and absorption test task force-. *AATEX, Suppl.* 13, 235, 2008
  - 5) 杉江謙一ら, 種々3次元培養皮膚モデルの物質透過性試験の代替材料としての有用性に関する検討: ヒト皮膚及びヘアレスラッ

- ト皮膚との物質透過性及び皮膚組織の比較, 日本薬学会年会要旨集-4, 288, # 28Q-pm048, 2009
- 6) 杉林堅次ら, 三次元培養ヒト皮膚モデルを用いた透過性試験の有用性評価, 日本動物実験代替法学会総会・学術大会要旨集, 156, 2009
  - 7) 杉林堅次ら, 化粧品の新しい経皮吸収研究の展望, フレグランスジャーナル, 38, 53, 2010
  - 8) Seki T. et al, Novel experimental system as an alternative to animal experiments to study the skin permeation of drugs, AATEX, 14, 887-897, 2009
  - 9) 三木涼太郎ら, *in vitro* 経皮吸収試験の為のヒト皮膚代替人工膜に用いる合成高分子の評価, 日本薬学会年会要旨集-4, 189, # 26P-pm029, 2009
  - 10) Polak S. et al., Prediction of human pharmacokinetics following dermal administration: integration of a skin absorption module to the simcyp population-based ADME simulator™, ALTEX, 26, 137-138, Special Issue: 7th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, abstract ABS:769, 2009
  - 11) Diembeck W. et al., Skin absorption and penetration. ATLA, 33, Suppl. 1, 105, 2005
- G. 研究発表
- G-1 論文発表
- 1) 廣田衛彦, 鈴木美絵, 板垣宏, 相場節也, 細胞表面-SH 基を指標とした感作性試験代替法 (SH test). フレグランスジャーナル 10月号, 49-54, 2007.
  - 2) Hagino, S., Okazaki, Y., and Itagaki, H., An *in vitro* tier evaluation for the identification of cosmetic ingredients which are not ocular irritants. Altern Lab. Anim. 36, 641-652, 2008.
  - 3) 板垣宏, 萩野滋延, 動物実験代替法への化粧品企業における取り組み, ファルマシア 44, 863-868, 2008.
  - 4) Suzuki, M., Hirota, M., Hagino, S., Itagaki, H. and Aiba, S., Evaluation of changes of cell-surface thiols as a new biomarker for *in vitro* sensitization test. Toxicol *In Vitro* 23, 687-696, 2009.
  - 5) Hoya, M., Hirota, M., Suzuki, M., Hagino, S., Itagaki, H. and Aiba, S., Development of an *in vitro* photosensitization assay using human monocyte-derived cells. Toxicol *In Vitro* 23, 911-918, 2009.
  - 6) Hirota, M., Suzuki, M., Hagino, S., Kagatani, S., Sasaki, Y., Aiba, S. and Itagaki, H., Modification of cell-surface thiols elicits the activation of human monocytic cell line: Possible mechanism involved in the effect of haptens, 2,4-dinitrochlorobenzene and nickel sulfate, J Toxicol Sci., 34, 139-150, 2009.
  - 7) Kagatani, S., Sasaki, Y., Hirota, M., Mizuashi, M., Suzuki, M., Ohtani, T., Itagaki, H. and Aiba, S., Oxidation of cell surface thiol groups by contact sensitizers triggers the maturation of dendritic cells. J Invest Dermatol 130, 175-83, 2009.
- G-2 学会発表 (講演及び学会発表)
- 1) Hagino, S., Hoya, M., Sono, S., Ishikawa, M., Ashikaga, T., and Itagaki, H., "Effect of antibiotic-antimycotic on the human Cell Line Activation Test (h-CLAT)", 6th world congress on alternatives & animal use in the life sciences, 2007.
  - 2) Hirota, M., Suzuki, M., Hagino, S., Kagatani, S., Sasaki, Y., Aiba, S., and Itagaki, H., "Role of cell-surface thiols in activation of hapten-treated THP-1 cells", 6th world congress on alternatives & animal use in the life sciences, 2007a.
  - 3) Hirota, M., Suzuki, M., Hagino, S., Kagatani, S., Sasaki, Y., Aiba, S., and Itagaki, H., "Role of cell-surface thiols in activation of hapten-treated THP-1 cells and evaluation as a biomarker for *in vitro* sensitization test." Society of Toxicology 46th annual meeting, 2007b.
  - 4) Hoya, M., Hirota, M., Suzuki, M., Hagino, S., and Itagaki, H., "Development of alternative photosensitization assay using human monocyte-derived cells", 6th world congress on alternatives & animal use in the life sciences, 2007.
  - 5) Ishikawa, M., Ashikaga, T., Hagino, S., and Itagaki, H., "Development of

- 3D-culture model of THP-1 cells for evaluating skin sensitization potential of insoluble test samples", 6th world congress on alternatives & animal use in the life sciences - Beijing satellite symposium, 2007.
- 6) Itagaki, H., "Alternatives for eye irritation testing: History and present status in Japan", 6th world congress on alternatives & animal use in the life sciences, 2007.
- 7) Itagaki, H., "Current Status of Alternative Methods & Activities of the JSAAE (The Japanese Society for Alternatives to Animal Experiments)", 6th world congress on alternatives & animal use in the life sciences - Beijing satellite symposium, 2007.
- 8) Kagatani, S., Sasaki, Y., Mizuashi, M., Hirota, M., Suzuki, M., Itagaki, H., and Aiba, S., "Role of cell-surface thiols in activation of hapten-treated dendritic cells", 6th world congress on alternatives & animal use in the life sciences, 2007.
- 9) Kosaka, N., Ashikaga, T., Sakaguchi, H., Sono, S., Itagaki, H., and Nishiyama, N., "Evaluation of the *in vitro* skin sensitization test; Human Cell Line Activation Test (h-CLAT) using the modified prediction model", 6th world congress on alternatives & animal use in the life sciences, 2007.
- 10) Suzuki, M., Hirota, M., Hagino, S., Itagaki, H., and Aiba, S., "Construction of decision tree of *in vitro* sensitization assay using changes of cell surface thiols as a biomarker (SH test)", 6th world congress on alternatives & animal use in the life sciences, 2007.
- 11) Wakuri, S., Kitagaki, M., Itagaki, H., Ohno, Y., and Tanaka, N., "Application of cytotoxicity assays as alternatives to acute oral systemic toxicity tests", 6th world congress on alternatives & animal use in the life sciences, 2007.
- 12) 鈴木美絵, 廣田衛彦, 萩野滋延, 板垣宏, 相場節也, "細胞表面-SH 基を指標とした感作性試験代替法 (SH test) の開発 (2) : 試験条件の確立", 日本トキシコロジー学会学術年会, 2007.
- 13) 廣田衛彦, 鈴木美絵, 萩野滋延, 加賀谷早織, 佐々木喜教, 板垣宏, 相場節也, "細胞表面-SH 基を指標とした感作性試験代替法 (SH test) の開発 (1) ~感作性処理した THP-1 細胞の活性化における細胞表面-SH 基の役割~", 日本トキシコロジー学会学術年会, 2007.
- 14) Ashikaga, T., Sakaguchi, H., Nukada, Y., Kosaka, N., Sono, S., Nishiyama, N., and Itagaki, H., "Database of h-CLAT (cell-based skin sensitization test) for clarification of applicability domain", 45th Congress of the European Societies of Toxicology, 2008.
- 15) 萩野滋延, 岡崎有羽子, 北垣雅人, 板垣宏, "SIRC 細胞毒性試験と 3 次元培養真皮モデルを用いる試験の組合せによる眼刺激性評価法の検討", 日本動物実験代替法学会第 21 回大会, 2008.
- 16) 足利太可雄, 坂口齊, 額田祐子, 小坂七重, 伊藤勇一, 菌さき子, 西山直宏, 板垣宏, "既知化合物 (100 品) による皮膚感作代替法試験 h-CLAT の有用性評価", 日本動物実験代替法学会第 21 回大会, 2008.
- 17) 小島肇, 飯島正文, 松永佳世子, 佐々齊, 板垣宏, 岡本裕子, 西山直弘, 小野寺博志, 見田活, 鷺田淳, 益山光一, 増田光輝, 大野泰雄, "医薬部外品の承認申請における安全性に関わる資料のあり方検討委員会報告", 日本動物実験代替法学会第 21 回大会, 2009.
- 18) Ishikawa, M., Ovigine, J-M., Ashikaga, T., Staropoli, A., Itagaki, H., Meunier, J.R. and Kohno, Y. Co-culture system between THP-1 and Episkin for a new idea of *in vitro* skin sensitization model. WC7, 2009.
- H. 知的財産権の出願・登録状況  
なし

## 分担研究年度終了報告書

### ヒト接触皮膚炎評価の見直し

研究分担者 松永佳世子 藤田保健衛生大学医学部

#### 研究要旨

本研究は、欧州で 2009 年より適用される化粧品のそれら成分に対する動物実験禁止、および販売の禁止に対応するため、わが国で販売される新規化粧品や医薬部外品、医薬品等においても対応できるような動物実験代替法（以下、代替法）の開発、バリデーションおよび評価を進め、代替法を組み込んだ安全性評価システムについて検討することを目的としている。この研究のなかで、皮膚科臨床医として、また日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会の代表として参加し、臨床医の立場から、代替法を組み込んだ安全性評価システムの構築に参加した。平成 19 年度は海外情報の収集に当たった。欧州 5 カ国を訪問し化粧品をはじめとする接触皮膚炎の研究実態を調査し、欧州において皮膚科医、化学研究者、化粧品企業の密な連携がなされていることを学び、日本においても同様なネットワーク構築が必要かつ可能であると考えた。

平成 20 年度は、国内における情報収集の一環として、2006～2007 年の藤田保健衛生大学皮膚科における化粧品による接触皮膚炎を疑いパッチテストを施行した症例についてまとめ、1992～1994 年、1995 年～1998 年の当科の結果と比較した。その結果、シャンプー、クリーム、日焼け止め、口紅、染毛剤、美容液、ファンデーションが上位を占める傾向に変化はなかった。症例としては、刺激性接触皮膚炎が多い。個々の症例において、ヒト接触皮膚炎が顔面でしか再現されないものがあった。

また、2008 年に複数の施設で実施されたパッチテスト結果を集計・解析し、アレルギーの過去の結果と比較した。その結果、10 年間順位の変動はあるものの、陽性率の高いアレルギー 10 種は同様であった。

平成 21 年度は、日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会 皮膚刺激研究グループにて、一次刺激性評価のためのパッチテスト貼布時間を検討した。現在、化粧品や医薬部外品の皮膚一次刺激のパッチテストによる評価は、医療機関では主に 48 時間貼布により、企業では主に 24 時間貼布で行われている。48 時間貼布と 24 時間貼布について比較評価した報告はない。一方、OECD 等で一次刺激性評価法としては 4 時間貼布が検討されている。試験試料は、一次刺激性物質としてパッチテストや動物試験にて刺激性が有るとされている物質および化粧品原料として汎用されている物質を用いた。被験者はテスト実施部位（背部）に異常所見のない者とした。貼布部位は上背部傍脊椎部として、左背部に 48 時間貼布、右背部に 24 時間貼布、両側の上記貼布物質の下部に 4 時間貼布を施行した。判定は皮膚刺激判定用新基準を用いた。すべて同時に評価できるように、貼布時間を調整した。その結果、4 時間貼布では、皮膚刺激反応を惹起することはできなかった。24 時間および 48 時間貼布の皮膚刺激反応には差は認めなかった。皮膚一次刺激性のパッチテストによる評価は、24 時間貼布および 48 時間貼布の何れでも可能であると結論された。

を向上させ、活力を増すことができる。

このような化粧品や医薬部外品、あるいは外用医薬品の安全性や有効性は、これまで動物実験などを経て、ヒトのパッチテストあるいは使用試験によって評価されてきた。よって、これらの安全性は、黒皮症が多発した 1970 年代の状況から比べると、2008 年現在、明らかに改善されている。

#### A. 研究目的

年齢や性別を問わず、清潔、保湿、紫外線防除などのスキンケアには、さまざまな化粧品や医薬部外品が使用されている。魅力を増すメイクアップ化粧品やヘアダイ、パーマ液などの医薬部外品は我々の生活の質（Quality of Life: QOL）

しかし、安全性が評価されて市場に広く販売されているこれらの製品においても、現在でも刺激性接触皮膚炎、あるいはアレルギー性接触皮膚炎を少なからず診療し、また発熱やリンパ節腫脹などの全身症状を伴う接触皮膚炎、あるいは化粧品の使用によって、血圧低下、意識消失をきたすアナフィラキシーなどの重篤な有害事象を含むさまざまな障害例を経験している。

一方、欧州で2009年より適用される化粧品のそれら成分に対する動物実験禁止、および販売の禁止に対応するため、わが国で販売される新規化粧品や医薬部外品、医薬品等においても対応できるような動物実験代替法(以下、代替法)の開発、バリデーションおよび評価を進め、代替法を組み込んだ安全性評価システムについて検討する。

分担研究者は皮膚科臨床医、日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会の代表者として、本研究に参加し、代替法の評価を行うとともに、あり方委員会に参加した。さらに、国内外の情報収集に努め、動物実験を用いない場合におけるヒト臨床試験のあり方について検討した。

まず、現状を認識する目的において、19年度海外の情報を収集した。欧州5カ国を訪問し化粧品をはじめとする接触皮膚炎の研究実態を調査し、欧州において皮膚科医、化学研究者、化粧品企業の密な連携がなされていることを学び、日本においても同様なネットワーク構築が必要かつ可能であると考えた。

20年度は、国内における情報収集として、2006年および2007年に当科で化粧品による接触皮膚炎を疑いパッチテストを施行した症例についてまとめ、過去の結果と比較した。

また、2008年に複数の施設で実施されたパッチテスト結果を集計し、解析した。日本接触皮膚炎学会において、1994年に標準アレルゲンが決定され、以後、協力施設にアレルゲンを配布し、陽性率を報告してきた。しかしながら、諸事情により学会からの配布が不可能となったころから、その報告は2000年以降されていなかった。2005年より、Brial社において標準アレルゲンと同じ濃度のアレルゲンが作られることになったことから、海外技術交易を通じて入手できるようになり、日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会における共同研究が再開されている。

平成21年度は、日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会 皮膚刺激研究グループにて、一次刺激性評価のためのパッチテスト貼布時間を検討した。現在、化粧品や医薬部外品の皮膚一次刺激のパッチテストによる評価は、医療機関では主に48時間貼布により、企業では主に24時間貼布で行われている。しかし、本邦で一次刺激性の評価法として48時間貼布と24時間貼布について比較評価した報告はなく、また現在OECD等で一次刺激性評価法

としては4時間貼布が検討されている。従って、皮膚刺激性を捉えるための最適な予知パッチ貼布時間を検討する必要があると考えられた。

皮膚一次刺激のクローズドパッチテストによる評価法として、48時間貼布、24時間貼布及び4時間貼布について、界面活性剤・保湿剤・殺菌剤・油剤を用いて被験物質の一次刺激性を捉えるための最適な予知パッチ貼布時間を検討した。また、皮膚刺激性を評価するために、より細かな皮膚反応を比較評価が可能な皮膚刺激判定用新基準を用いて評価した。

## B. 研究方法

### B. 1. 情報収集

#### B. 1. 1 海外情報

分担研究者は現在、国際接触皮膚炎研究班(International Contact Dermatitis Research Group:ICDRG) 班員である。本研究に関連した化粧品をはじめとする接触皮膚炎の欧州の情報を得るためにICDRGの班員であるフィンランドのKristiina Turjanmaa 博士、スウェーデンのMagnus Bruze 教授、英国のIan R White 教授およびJohn MacFadden 博士、ベルギーのAn Goossense 教授のクリニックと研究施設を訪問した。また、欧州接触皮膚炎学会(European Society of Contact Dermatitis:ESCD) 理事長のJean-Pierre Lepoittvin 教授の皮膚化学研究室を訪問し、化粧品に関わる接触皮膚炎の情報を国際的な立場で収集した。

#### B. 1. 2. 国内情報

##### B. 1. 2. 1 藤田保健衛生大学皮膚科におけるパッチテスト症例

2006年および2007年の藤田保健衛生大学医学部皮膚科のパッチテスト施行症例を解析した。また、1992~1994年、1995年~1998年の当科における化粧品による接触皮膚炎のパッチテスト施行症例と比較した。

具体的な方法を以下に示す。

対象期間：2006年1月~2007年12月

対象者：当科で化粧品による接触皮膚炎、および口唇炎を疑ってパッチテストを施行した症例  
2006年 56例(男性2例、女性54例)、2007年 61例(男性6例、女性55例)、年齢3歳~79歳

方法：Finn-Chamber on Scapor tape を用いて、患者の背部または上腕内側に試料を48時間閉塞貼付した。シャンプー、リンス、トリートメント、ボディソープは1%水溶液を用い、その他の製品はそのまま貼付した。染毛剤、パーマ剤は開放塗布で試験した。

判定：ユニット除去1時間後に1回目の判定(48



時間後の判定)を行い、その24時間後に2回目の判定(72時間の判定)、1週間後に3回目の測定を行った。判定には、国際接触皮膚炎研究班(ICDRG)基準を用い、72時間または1週間後に+以上であったものを陽性とした。

#### B. 1. 2. 2 パッチテスト共同研究

2008年に複数の施設で実施されたパッチテストを集計し、過去の分布との比較検証を行った。対象期間:2005年4月~2008年3月(3年間)

協力施設:青山皮膚科クリニック、池田回生病院、大阪回生病院、大阪市立大学、鹿児島大学、刈谷整形外科、刈谷豊田総合病院、九州大学、京都府立医科大学、久留米大学、第一クリニック、東邦大学、東京医科歯科大学、独協医科大学、名古屋市立大学、新潟大学、西さっぽろ皮膚科、福井大学、藤田保健衛生大学、横浜市立大学、横浜市立総合医療センター

方法:Brial社のジャパニーズスタンダードアレルゲン(添付資料参照)を購入した施設に協力を依頼し、送付されてきたパッチテスト結果を集計した。

総数:1,669例

#### B. 2. ヒト臨床試験 パッチテスト共同研究

被験者はテスト実施部位(背部)に異常所見のない者とした。アトピー素因を有するものも可とした。除外対象者としてはステロイド外用あるいは内服している者、本試験の試験試料にアレルギーを有する者。本試験試料に対して、易被刺激性が既知である者とした。

試験試料は、一次刺激性物質としてパッチテストや動物試験にて刺激性が有るとされている物質及び化粧品原料として汎用されている物質を用いた。アニオン系界面活性剤であるラウリル硫酸ナトリウム(0.5%、0.3%、0.1%水溶液)、保湿剤であるプロピレングリコール(50%、30%水溶液)、脂肪酸石鹼であるラウリン酸ナトリウム(2%、1%水溶液)、油剤であるミリスチン酸イソプロピル(100%)、カチオン界面活性剤である塩化ベンザルコニウム(0.10%、0.05%水溶液)、ノニオン界面活性剤であるポリオキシエチレン(10モル)オレイルエーテル(10%、5%水溶液)、およびこれらの基剤である白色ワセリン、蒸留水、生理食塩水を100%で貼布した。

貼布部位は上背部傍脊椎部として、左背部に48時間貼布、右背部に24時間貼布、両側の上記貼布物質の下部に4時間貼布を施行した。すべて同時に評価できるように、貼布時間を調整した。

判定は皮膚刺激判定用新基準を用いた。

### C. 結果

#### C. 1. 情報収集

#### C. 1. 1 海外情報

欧州においては、パッチテスト試料が市販されて容易に入手できる。接触皮膚炎クリニックに化学分析のできる充実した皮膚科、職業皮膚科が存在する。特にベルギーでは化粧品企業と皮膚科医、化学者が協力して、CDESKPROというコンピューターによるオンラインシステムを立ち上げており、化粧品の成分の登録、パッチテスト結果の登録、ネガティブリストの公開、パッチテストの支援システムなどが機能しており、アレルゲンの陽性率など、有用なデータがリアルタイムでだせる優れたネットワークを構築していた。

#### C. 1. 2. 国内情報

##### C. 1. 2. 1 藤田保健衛生大学皮膚科におけるパッチテスト結果

2年間のパッチテストの結果、陽性となった製品を以下に示す。

シャンプー4例、保湿クリーム(クリーム)4例、UVクリーム(日焼け止め)4例、口紅4例、染毛剤4例、美容液3例、ファンデーション2例、化粧水1例、リップペンシル1例、マスカラ1例、整髪料1例、ヘアトリートメント1例であった。過去の結果との比較を図1にまとめた。シャンプー、クリーム、日焼け止め、口紅、染毛剤、美容液、ファンデーションが上位を占める傾向に変化はなかった。

個々の症例において、ヒト接触皮膚炎は、顔面でしか再現されないものがあつた。本症例は、シルクパウダーの顔面への繰り返し塗布により膨疹を発症した例であり、ヒト背部のパッチテストや前腕でのプリックテストで再現性を認めず、原因を明確にできなかった。しかし、顔面への塗布による使用試験では、症状の再現性を確認でき、接触蕁麻疹と診断した。

その他の症例としては、刺激性接触皮膚炎が多いが、最近アレルギー性蕁麻疹の貴重な症例を経験した。

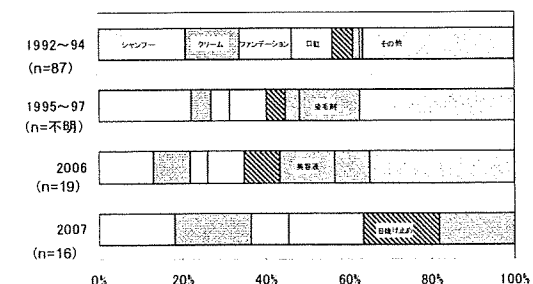


図1. 藤田保健衛生大学における陽性製品の推移

##### C. 1. 2. 2 パッチテスト共同研究

10年間順位の変動はあるものの、表1に示す

ように、陽性率の高いアレルゲン 10 種は同様であった。主なアレルゲンの推移を図 2 に示したが、変動は少なかった。

ただし、金属アレルゲンの陽性率は徐々に低下していた。特に金と水銀の陽性率が低下していた。

外用剤に含有されている Fradiomycin sulfate の陽性率が高くなっているように思われた。Urushio, p-Phenylenediamine, Thiromesal, Ammoniated mercuric chloride, potassium dichromate は Brial 社からの入手が不可能であり、特に p-phenylenediamine のパッチテスト用アレルゲンは市販されておらず、自家製のアレルゲンを貼付している現状である。

表 1. パッチテスト陽性物質トップ 10

	1998	1999	2000	2005-2007
1	Cobalt chloride: 17.2%	Cobalt chloride: 14.3%	Nickel sulfate: 15.5%	Nickel sulfate: 12.4%
2	Nickel sulfate: 16.2%	Nickel sulfate: 12.4%	Cobalt chloride: 14.5%	Cobalt chloride: 8.7%
3	Pottassium dichromate: 13.7%	Urushiol: 9.8%	Pottassium dichromate: 10.6%	Fradiomycin sulfate: 6.8%
4	Urushiol: 8.5%	Pottassium dichromate: 9.7%	Urushiol: 9.9%	Urushiol: 6.4%
5	Ammoniated mercuric chloride: 7.4%	Ammoniated mercuric chloride: 6.8%	Ammoniated mercuric chloride: 8.0%	Pottassium dichromate: 6.3%
6	Fradiomycin sulfate: 5.9%	Fradiomycin sulfate: 6.0%	PPD: 5.7%	Fragrance mix: 5.7%
7	Thimerosal: 5.6%	Fragrance mix: 5.0%	Fragrance mix: 5.6%	PPD: 5.7%
8	PPD: 4.8%	Thimerosal: 4.6%	Fradiomycin sulfate: 5.0%	Balsam of Peru: 4.2%
9	Fragrance mix: 4.8%	PPD: 4.5%	Thimerosal: 4.8%	Thimerosal: 4.0%
10	Formaldehyde: 4.0%	Balsam of Peru: 4.0%	Balsam of Peru: 4.0%	Ammoniated mercuric chloride: 3.2%
	Balsam of Peru: 4.0%			
	Gold sodium thiosulfate: 8.3%	Gold sodium thiosulfate: 6.9%	Gold sodium thiosulfate: 7.0%	Gold sodium thiosulfate: 4.5%

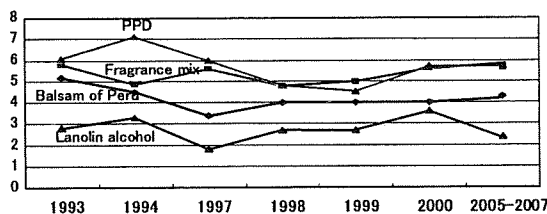


図 2. 主なアレルゲンの推移

### C.2 ヒト臨床試験 パッチテスト共同研究

図 3 に示すように 4 時間貼布では、皮膚刺激反応を惹起することはできなかった。24 時間および 48 時間貼布の皮膚刺激反応には差は認めなかった。

- 1) 刺激性が認められる成分では、24 時間貼付および 48 時間貼布は刺激性が評価可能であったが、4 時間貼布では刺激反応の発生は少なかった。
- 2) 48 時間貼布・24 時間貼布・4 時間貼布の 3 群間では刺激反応の出現率に有意差 ( $\chi^2 n \times m$  検定) が認められた。一方、48 時間貼布・24 時間貼布の 2 群では、刺激反応の出現率に有意差 ( $\chi^2 n \times m$  検定) は認められなかった。

3) 刺激反応の判定は、48 時間貼布・24 時間貼布では試料除去後 0 日、1 日が刺激反応のピークとなっており、2 日判定では低減していた。

4) 48 時間貼布では補強用の絆創膏 (サージカルテープ) によるカブレの発生が多かった。

5) 「新判定基準」は「本邦基準」より被験物質の刺激性の差を検出し易い結果を得た。

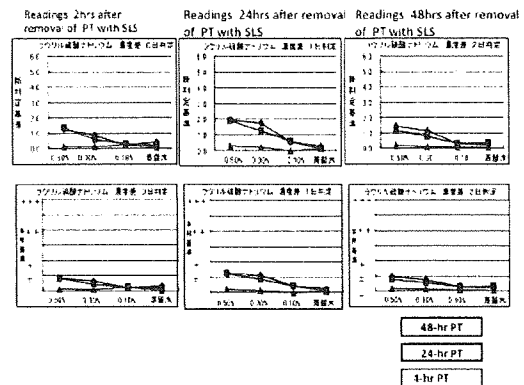


図 3. 貼布 4 時間、24 時間、48 時間の皮膚刺激反応の差

### D. 考察

欧州における化粧品に関わる接触皮膚炎の研究は、我が国よりはるかに進んでいる。我が国ではごく限られた種類のパッチテスト試料が保険適応された診断薬として入手できるのみで、新たに必要なアレルゲンの開発は医薬品の規格を満たす試験を行う必要があり、採算に合わないため新規製品の開発が不可能な現状であるのに比較し、その研究背景は恵まれた環境であった。

動物実験が廃止された場合には、ヒトのパッチテストが、その安全性評価により汎用されることが推測できる。パッチテスト試料が診断用医薬品の規制のなか、新たな種類のアレルゲンを開発販売することは、多大な経費を必要として企業としては採算が合わない現状を踏まえて、産学官の協力によって、化粧品の成分の登録、パッチテスト試料作成、パッチテスト結果を企業と臨床医、患者の 3 者に役立てるシステム作りが早急な課題である。

一方、国内においては、黒皮症が多発した 1970 年代の状況から比べると、2008 年現在、化粧品や医薬部外品、あるいは外用医薬品の安全性は明らかに改善されている。しかしながら、直接肌に触れる製品のため、接触皮膚炎を引き起こしてしまう症例も少なくない。

今回の研究において、動物実験や代替法でも、さらにヒト背部のパッチテストや前腕でのプリックテストでも再現されない部位特有の顔面反応を認めた。この症例が示すように、ヒトの部位

差のある反応は、最終的には使用試験以外に安全性を担保するものはないと考える。化粧品や医薬部外品、あるいは外用医薬品の安全性確保のためには、まず、ヒト臨床試験としてパッチテストを行い、次に使用試験を行うことが妥当と考える。

使用試験については、倫理的な問題やその手順が十分に検討されていないが、パッチテストについては過去の文献や、共同研究から試験法の改良が期待される。21年度の成果として、パッチテストにおいて24時間、ないしは48時間の検査で評価に差がない結果を得たことは、被験者と試験施行者のいずれにも利便性やQuality of lifeを向上させると考えた。

#### E. 結論

- 1) 欧州の化粧品アレルゲン登録制度システムと同様なシステムの構築が待たれる
  - 2) 2006～2007年の藤田保健衛生大学皮膚科における化粧品による接触皮膚炎を疑いパッチテストを施行した症例についてまとめ、1992～1994年、1995年～1998年の当科の結果と比較した。その結果、シャンプー、クリーム、日焼け止め、口紅、染毛剤、美容液、ファンデーションが上位を占める傾向に変化はなかった。症例としては、刺激性接触皮膚炎が多い。
  - 3) 2008年に複数の施設で実施されたパッチテスト結果を集計・解析し、アレルゲンの過去の結果と比較した。その結果、10年間順位の変動はあるものの、陽性率の高いアレルゲン10種は同様であった。
  - 4) 皮膚一次刺激性のパッチテストによる評価は、24時間貼布及び48時間貼布の何れでも可能である。
- #### F. 健康危険情報
- なし。
- #### G. 研究発表
- ##### 論文発表
- 1) 矢上晶子、松永佳世子：皮膚アレルギーテストの結果をどう活かすか？ J Visual Dermatol 7:248-263, 2008
  - 2) 曾和順子、鈴木加余子、鷺見康子、松永佳世子：口紅、J Visual Dermatol 7:304-306, 2008
  - 3) 矢上晶子、松永佳世子：皮膚アレルギーテストの結果をどう活かすか？、Visual Dermatology 7 (3) : 258-263 (2008)
  - 4) 曾和順子（大阪市立）、鈴木加余子（刈谷豊田）、鷺見康子、松永佳世子：アレルギー性接触皮膚炎 口紅、Visual Dermatology 7 (3) : 304-306 (2008)
  - 5) 松永佳世子、早川律子、板見 智、石井正光、伊藤正俊、安永千尋、庄司昭伸、藤本美穂、鈴木真理、流田妙子、西井貴美子、杉浦真理子、矢上晶子、乾 重樹、小林裕美、関東裕美、岩佐明子、田水智子、加藤敦子、高橋晴人、山崎貞男：接触皮膚炎の既往ならびにアトピー性皮膚炎を対象とした敏感肌用化粧品の使用試験、皮膚の科学 7 (1) : 61-74 (2008)
  - 6) 松永佳世子：顔の毛穴が目立つのはなぜ？、解体新ショー NHK出版 東京 (2008)
  - 7) 山北高志、中川真実子、松永佳世子：Q:利用性の両手、主関節部に生じた湿疹病変 A:ヘアダイ皮膚炎、J Visual Dermatol 7 (6) : 655-656 (2008)
  - 8) 古田加奈子、亀山梨奈、鈴木加余子、松永佳世子：パッチテストで多種の外用剤に陽性であった皮膚潰瘍の1例、Journal of Environmental Dermatology and Cutaneous Allergology 2 (3) (Serial No. 6) : 167-172 (2008)
  - 9) 松永佳世子、矢上晶子：ラテックスアレルギー、アナフィラキシーショック、克誠堂出版 東京 pp218-230 (2008)
  - 10) 松永佳世子：②接触皮膚炎、皮膚科典型アトラス 560 日本医事新報社 東京 23-28 (2008)
  - 11) 松永佳世子：皮膚アレルギー検査の実際について教えてください、Oral allergy syndromeの診断のコツと原因検索法について教えてください、食餌性アレルギーなどに伴うアナフィラキシーショックへの対応について教えてください、皮膚科診療こんなときどうするQ&A 中外医学社 東京 8-14 (2008)
  - 12) 稲葉弥寿子、秋田浩孝、松永佳世子：知らないとはずかしい 皮膚疾患】頭頸部 頬部、顎部の網目状の色素沈着 色素沈着性接触皮膚炎 (pigmented contact dermatitis, Riehl 黒皮症)、J Visual Dermatol 7 (6)、635-636 (2008)
  - 13) 松永佳世子：いつまでも若々しく、美しい肌でいるために、まいんど 9-11 (2009)
  - 14) 松永佳世子：インプラント中の金属アレルギーによる皮膚障害が疑われた10症例の検討、J Environ Dermatol Cutan Allergol 3 (1)、32-41 (2009)
  - 15) 松永佳世子：よき伝統の継承・そして新たなる出発、マルホ皮膚科セミナー 放送内容集 197 : 4-6 (2009)
  - 16) 稲葉弥寿子、松永佳世子：吉草酸プレドニゾロンによる接触皮膚炎、J Visual Dermatol 8 (2) : 152-153 (2009)
  - 17) 稲葉弥寿子、中川真実子、松永佳世子：配合剤による接触皮膚炎、J Visual Dermatol

- 8 (2) : 154-155 (2009)
- 18) 矢上晶子, 松永佳世子: 日常品による接触皮膚炎、アレルギー・免疫 16 : 1344-6932 (2009)
- 19) 田中紅, 稲葉弥寿子, 中川真実子, 鈴木加余子, 松永佳世子: イソステアリン酸グリセリルによる接触口唇炎の1例. J Environ Dermatology & Cuban Allegro 3:163-169 (2009)
- 20) 中川真実子, 松永佳世子: アロマオイルが原因の湿疹遷延例. J Visual Dermatology 8:468-469 (2009)
- 21) 佐野晶代, 矢上晶子, 山北高志, 中川真美子, 井上智子, 鈴木加余子, 松永佳世子: 2006年に当科で化粧品による接触皮膚炎を疑いパッチテストを行った症例のまとめ. J Environ Dermatol & Cutan Allergol 3:94-100 (2009)
- 22) 松永佳世子, 矢上晶子: 接触皮膚炎の臨床症状と検査. アレルギー・免疫 16 : 20-26 (2009)
- 23) 松永佳世子: 接触皮膚炎. 皮膚臨床 51 : 特 : 49 : 1323-1331 (2009)
- 24) 松永佳世子: 疾患別: アレルギー診療のポイント 接触皮膚炎. medicina 47:272-275 (2010)
- H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む)
1. 特許取得  
なし
  2. 実用新案登録  
なし
  3. その他  
なし

## 分担研究年度終了報告書

### 動物実験代替法のバリデーションと第三者評価

研究分担者 小島 肇 国立医薬品食品衛生研究所

#### 研究要旨

日本で開発されたか、あるいは欧米で認証された新規試験法のバリデーション、専門家による第三者評価、行政的受入れの評価について検討した。

具体的には、バリデーションとして、1) 酵母生育阻害試験と赤血球光溶血性試験を組み合わせた光毒性試験代替法のバリデーションを総括するとともに、2) 皮膚感作性試験 LLNA-BrdU法の第2次バリデーション、3) 培養表皮モデル LabCyte EPI-MODEL24を用いた皮膚刺激性試験代替法の第1次および第2次バリデーションを行った。

第三者評価については、1) 皮膚感作性試験 LLNA-DA法、2) 皮膚感作性試験 LLNA-BrdU法、3) 酵母生育阻害試験と赤血球光溶血性試験を組み合わせた光毒性試験代替法、4) 培養表皮モデルを用いた皮膚刺激性試験代替法、5) 牛摘出角膜試験および鶏摘出眼球試験による眼刺激性試験代替法、6) in vitro発熱性物質試験を評価した。

行政的な受入れ評価として、JaCVAM 評価会議において、1) ヒト皮膚三次元モデルを用いた皮膚腐食性試験代替法、2) 皮膚感作性試験として LLNA-DA法、3) LLNA-BrdU、4) 酵母生育阻害試験と赤血球光溶血性試験を組み合わせた光毒性試験代替法、5) 培養表皮モデルを用いた皮膚刺激性試験代替法、6) 牛摘出角膜試験および鶏摘出眼球試験による眼刺激性試験代替法を評価した。

#### A. 研究目的

医薬品や化粧品の安全評価においては様々な動物実験結果が必要であるが、動物愛護の立場から、なるべく動物を使用しない試験法に置き換える事が要請されている。しかし、新しい方法に置き換えることにより臨床試験志願者や患者、一般消費者に不必要なリスクを負わせることは許されない。安全性評価の観点から、新しい方法が少なくとも従来の方法と同等か、あるいはそれ以上の能力をもつことが客観的に示されていなくてはならない。

日本で新規に開発された代替試験法のバリデーションおよび、日本で開発されたか、あるいは欧米で認証された試験法の第三者評価について検討した。

#### B. 結論

平成19年度は、資生堂から提案された酵母生育阻害試験と赤血球光溶血性試験を組み合わせた光毒性試験代替法のバリデーションを総

括した。平成20年度は、バリデーションとして、皮膚感作性試験 LLNA-BrdU法の第2次バリデーションおよび培養表皮モデル LabCyte EPI-MODEL24を用いた皮膚刺激性試験代替法、平成21年度は、LabCyte EPI-MODEL24を用いた皮膚刺激性試験代替法の第2次バリデーションを行った。

1) 皮膚感作性試験 LLNA-DA法、2) 皮膚感作性試験 LLNA-BrdU法、3) 酵母生育阻害試験と赤血球光溶血性試験を組み合わせた光毒性試験代替法、4) 培養表皮モデルを用いた皮膚刺激性試験代替法、5) 牛摘出角膜試験および鶏摘出眼球試験による眼刺激性試験代替法、6) in vitro発熱性物質試験を評価した。また、急性毒性試験代替法および眼刺激性試験代替法の評価を開始した。

行政的な受入れ評価として、JaCVAM評価会議において、1) ヒト皮膚三次元モデルを用いた皮膚腐食性試験代替法、2) 皮膚感作性試験 LLNA-DA法、3) 皮膚感作性試験 LLNA-BrdU、

4) 酵母成育阻害試験と赤血球光溶血性試験を組み合わせた光毒性試験代替法、5) 培養表皮モデルを用いた皮膚刺激性試験代替法、6) 牛摘出角膜試験および鶏摘出眼球試験による眼刺激性試験代替法を評価した。

これらの研究報告を以下に順に示す。

#### C. 健康危険情報

なし

#### D. 知的財産権の出願・登録状況

なし

#### E. 研究発表

誌上発表

- 1) 小島肇夫、感作性・刺激性試験/安全性評価のトラブル時の対応、現場レベルでの皮膚測定・評価～トラブル事例・対策～、pp. 268-273、サイエンス&テクノロジー (2007)
- 2) 小島肇夫、皮膚刺激性試験について、最新動物実験代替法、技術情報協会 pp. 63-71 (2007)
- 3) 小島肇夫、皮膚腐食性試験について、最新動物実験代替法、技術情報協会 pp. 75-84 (2007)
- 4) 小島肇夫、バリデーションについて、最新動物実験代替法、技術情報協会 pp. 267-273 (2007)
- 5) 小島肇夫、皮膚一次刺激性評価法、機能性化粧品素材開発のための in vitro/細胞/組織培養評価法ハンドブック、シーエムシー出版 pp. 308-314 (2007)
- 6) 小島肇夫、日本における動物実験代替法の開発動向、Fragrance Journal 10, 29-34 (2007)
- 7) 小島肇夫、動物実験代替法のバリデーション、COSMETIC STAGE, 8, 54-56 (2007)
- 8) 小島肇夫、代替法国際動向から見た新技術導入の可能性、動物実験代替法のためのバイオマテリアル・デバイス、シーエムシー出版 pp. 1-5 (2007)
- 9) 小島肇夫、急がれる動物実験代替法の開発 - 皮膚モデルの現状、New Drug Discovery, 023号、p4、(2007)
- 10) 小島肇夫、アレルギーVSトキシコロジー、皮膚アレルギーの旅 Vol. 7, No. 1, p1-7、(2008)
- 11) 小島肇夫、動物実験代替法の現状と展望、日本薬理学会会誌、130、505-509 (2008)
- 12) Kojima, H., JaCVAM: An organization supporting the validation and peer review of new alternatives to animal testing, WC6 proceedings, accepted (2008)
- 13) 小島肇夫、EUにおける動物実験代替法の現況と REACH 対策、日皮協ジャーナル、30 (2) 156-162 (2008)
- 14) 小島肇夫、皮膚感作性試験代替法の現状、Visual Dermatology、7 (3)、328-331 (2008)
- 15) Kojima, H., Perspectives on validation and regulatory acceptance of animal alternative testings in Japan, P&G Actives Risk Communication, 2 (1), 1-4 (2008)
- 16) Hajime Kojima, Tomoko Ando, Katsuhiko Inagaki, Mahito Ohhira, Tadashi Kosaka, Yosuke Nakamura, Hisashi Torishima, Noriyuki Morikawa, Jun Kanno, Mami Kuboki, Michiru Genno, Masaru Nokata, Takanori Harada, Takashi Morimoto, Isao Yoshimura, Yasuo Ohno, Validation of human skin models for skin corrosivity tests in Japan, *Altern. Animal Test. Experiment*, accepted (2008)
- 17) Takashi Omori, Yoshiaki Ikarashi, Yukiko Kanazawa, Kenji Idehara, Hajime Kojima, Takashi Sozu, Kazunori Arima, Hirohiko Goto, Tomohiko Hanada, Taketo Inoda, Tadashi Kosaka, Eiji Maki, Takashi Morimoto, Shinsuke Shinoda, Naoki Shinoda, Masahiro Takeyoshi, Masashi Tanaka, Mamoru Uratani, Masahito Usami, Atsushi Yamanaka, Tomofumi Yoneda, Isao Yoshimura and Atsuko Yuasa, Validation studies on an alternative endpoint for the local lymph node assay (LLNA-DA): Importance of study management, WC6 proceedings, accepted (2008)
- 18) 小島肇夫、in vivo 経皮吸収試験法、最新・経皮吸収剤～開発と基礎から申請のポイントまで～、株式会社情報機構、東京、pp. 95-103 (2008)
- 19) 小島肇夫、in vitro 経皮吸収試験法、最新・経皮吸収剤～開発と基礎から申請のポイントまで～、株式会社情報機構、東京、pp. 104-113 (2008)
- 20) 小島肇夫、安全性評価と動物実験代替法の現状、薬学雑誌、128 (5) 747-752. (2008)
- 21) 小島肇夫、動物実験の3Rsにおける国内外の動向、ファルマシア、44 (9)、857-861 (2008)

- 22) 小島肇夫、REACH 対応に必要な動物実験代替法の現状、コスメティックステージ、2 (5)、1-4 (2008)
- 23) 小島肇夫、動物実験代替法に関する 2008 年の国際動向、Fragrance Journal、2009-1、65-69 (2009)
- 24) 小島肇夫、動物実験代替法の現状と展望、J. Environ Dermatol Cutan Allergol, 3 (1)、1-6 (2009)
- 25) Hajime Kojima, Tomoko Ando, Katsuhiko Inagaki, Mahito Ohhira, Tadashi Kosaka, Yosuke Nakamura, Hisashi Torishima, Noriyuki Morikawa, Jun Kanno, Mami Kuboki, Michiru Genno, Masaru Nokata, Takanori Harada, Takashi Morimoto, Isao Yoshimura, Yasuo Ohno, Validation of human skin models for skin corrosivity tests in Japan, *Altern. Animal Test. Experiment*, 13(1), 36-44 (2008)
- 26) Takashi Omori, Kenji Idehara, Hajime Kojima, Takashi Sozu, Kazunori Arima, Hirohiko Goto, Tomohiko Hanada, Yoshiaki Ikarashi, Taketo Inoda, Yukiko Kanazawa, Tadashi Kosaka, Eiji Maki, Takashi Morimoto, Shinsuke Shinoda, Naoki Shinoda, Masahiro Takeyoshi, Masashi Tanaka, Mamoru Uratani, Masahito Usami, Atsushi Yamanaka, Tomofumi Yoneda, Isao Yoshimura, Atsuko Yuasa, Interlaboratory validation of the modified murine local lymph node assay based on adenosine triphosphate measurement, *Journal of Pharmacological and Toxicological Methods* 58 11-26 (2008)
- 27) Arai, S., Yamamoto, N., Kato M., and Kojima, H.: An *in vitro* evaluation methods to test ocular irritation using a human corneal epithelium model, *Altern. Animal Test. Experiment*, 13(2), 83-90 (2008)
- 28) 小島肇夫：動物実験代替法の現状と展望、J. Environ Dermatol Cutan Allergol, 3 (1)、1-6 (2009)
- 29) 小島肇夫：動物実験の 3Rs における国内外の動向、城西大学生命科学研究センター報告第 7 号、p37-50 (2009)
- 30) 小島肇夫：動物実験データなしで新規医薬部外品の申請はどこまで可能か？、*BIO INDUSTRY*, 26 (8) 42-49 (2009)
- 31) 小島肇夫：皮膚・粘膜毒性、新版 トキシコロジー、日本トキシコロジー学会教育委員会編集、pp.246-254 (2009)
- 32) 小島肇夫：医薬部外品と化粧品、GLP/非 GLP 試験の具体的実施ポイント、技術情報、東京、pp.425-433 (2009)
- 33) 小島肇夫：REACH における環境影響試験、フレグランスジャーナル 2009-8、46-51 (2009)
- 34) 小島肇夫、新井晶子、北條麻紀：再構築培養表皮モデルを用いた遺伝毒性の評価、*コスメトロジー研究報告*、17、57-62 (2009)
- 35) 小島肇夫：現在の動物実験代替法の状況について、*LABIO21*、38、17-20 (2009)

#### 学会発表

- 1) Kojima, H. JaCVAM Update, 6<sup>th</sup> World Congress on Alternatives 6 Animal Use in the Life Sciences, p.119, Tokyo (2007)
- 2) Kojima, H. JaCVAM Process to Validate and Peer Review of New Alternative Methods, 6<sup>th</sup> World Congress on Alternatives 6 Animal Use in the Life Sciences, p.82, Tokyo (2007)
- 3) Kojima, H. Validation study using Japanese models, 6<sup>th</sup> World Congress on Alternatives 6 Animal Use in the Life Sciences, p.64, Tokyo (2007)
- 4) Arai, S., Yamamoto, N. and Kojima, H. Safety evaluation test using a human cultured epidermal model- with the ECVAM validation proposal and chemicals-, 6<sup>th</sup> World Congress on Alternatives 6 Animal Use in the Life Sciences, p.224. Tokyo (2007)
- 5) Kojima, H., Arai, S., Kubo, K. and Kato M., Dose-response evaluation using a corneal model, an alternative to Draize eye irritation testing, 6<sup>th</sup> World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, p.223, Tokyo (2007)
- 6) Yamamoto, N, Kojima, H., Tanikawa, A. and Horiguchi, M., A study of retinal regenerative medicine by human iris tissue cells, 6<sup>th</sup> World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, p.103, Tokyo (2007)
- 7) Yoshiaki Ikarashi, Takashi Omori, Yukiko Kanazawa, Kenji Idehara, Hajime Kojima, Takashi Sozu, Kazunori Arima, Hirohiko Goto, Tomohiko Hanada, Taketo Inoda, Tadashi Kosaka, Eiji Maki, Takashi Morimoto, Shinsuke Shinoda, Naoki Shinoda, Masahiro Takeyoshi, Masashi Tanaka, Mamoru Uratani, Masahito Usami, Atsushi Yamanaka, Tomofumi Yoneda, Isao Yoshimura and Atsuko Yuasa, First Inter-laboratory validation study on LLNA-DA, 6<sup>th</sup> World Congress on

- Alternatives 6 Animal Use in the Life Sciences, p.254, Tokyo (2007)
- 8) Yukiko Kanazawa, Takashi Omori, Yoshiaki Ikarashi, Kenji Idehara, Hajime Kojima, Takashi Sozu, Kazunori Arima, Hirohiko Goto, Tomohiko Hanada, Taketo Inoda, Tadashi Kosaka, Eiji Maki, Takashi Morimoto, Shinsuke Shinoda, Naoki Shinoda, Masahiro Takeyoshi, Masashi Tanaka, Mamoru Uratani, Masahito Usami, Atsushi Yamanaka, Tomofumi Yoneda, Isao Yoshimura and Atsuko Yuasa, Second Inter-laboratory validation study on LLNA-DA, 6<sup>th</sup> World Congress on Alternatives 6 Animal Use in the Life Sciences, p.255, 6<sup>th</sup> World Congress on Alternatives 6 Animal Use in the Life Sciences, Tokyo (2007)
  - 9) Takashi Omori, Yoshiaki Ikarashi, Yukiko Kanazawa, Kenji Idehara, Hajime Kojima, Takashi Sozu, Kazunori Arima, Hirohiko Goto, Tomohiko Hanada, Taketo Inoda, Tadashi Kosaka, Eiji Maki, Takashi Morimoto, Shinsuke Shinoda, Naoki Shinoda, Masahiro Takeyoshi, Masashi Tanaka, Mamoru Uratani, Masahito Usami, Atsushi Yamanaka, Tomofumi Yoneda, Isao Yoshimura and Atsuko Yuasa, Validation studies on LLNA: Importance of study management, 6<sup>th</sup> World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, p.264, Tokyo (2007)
  - 10) Stokes, W. S., Bremer, S., Jacobs, M., Ono A., Kojima, H., Ceger, P., Deal F. and Tice, R., NICVEATM/ECVAM/JaCVAM Multi-phase International validation study of an in vitro estrogen receptor transcriptional activation assay to detect agonist and antagonist activity, 6<sup>th</sup> World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, p.265, Tokyo (2007)
  - 11) Kojima, H., International Validation Study of Non Animal Screening Assay for Endocrine Disrupter, 2007 National Institute of Toxicological Research International Symposium, Korea (2007)
  - 12) 小島 肇、代替法を取り巻く内外の動きと今後の方向性、皮膚基礎研究クラスターフォーラム第2回教育セミナー、東京(2007)
  - 13) 小島 肇、動物実験と代替法の現状、城西大学生命科学研究センター講演会、城西大学 (2007)
  - 14) 小島 肇、EUにおける動物実験代替法の現状と REACH 対策、日皮協・会員研究会、京都 (2007)
  - 15) 小島 肇、3次元培養皮膚モデルを用いた皮膚毒性の評価、化粧品の安全性・機能性評価の最前線、第17回動物細胞工学会シンポジウム、東京 (2007)
  - 16) 小島 肇、3次元培養皮膚モデルを用いた皮膚毒性の評価－REACH の現状と将来－、日本動物実験代替法学会 技術講習会「3次元培養皮膚モデルの活用」、東京 (2007)
  - 17) 小島 肇、動物実験代替法を用いて皮膚刺激性をどう評価するか、シンポジウム「化粧品・化学物質の皮膚安全性(刺激性・感作性)をどう評価するか、第37回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会、名古屋 (2007)
  - 18) Arai, S., Saitou, M., Takashima, Y. Honma, M. and Kojima, H., A new trial for in vitro Comet assay using a 3-dimensional human epidermal model, 36<sup>th</sup> Annual Meetings of the Japanese Environmental Mutagen Society, Kitakyusyu (2007)
  - 19) Kojima, H., et al, Validation and implementation, Round table on International aspects of validation & accept, Regulatory Acceptance and Implementation of 3R approach, Annual Conference 2007 EPAA, Brussels (2007)
  - 20) Kojima, H., The Importance of the in vivo comet assay in genotoxicity testing, Predictive Human Toxicity and ADME/TOX studies, 3<sup>rd</sup> Annual conference of Mondial Research Presentation, Brussels (2008)
  - 21) 小島 肇、国内外の規制動向、WC6 フォローアップシンポジウム 3Rsに基づく動物実験の規制と第三者認証、東京 (2008)
  - 22) Kojima, H., et al., Panel Discussion, ICCVAM Tan-Year Anniversary Symposium, Washington DC (2008)
  - 23) Kojima, H., Opening remark, Workshop on Acute chemical safety testing: Advancing in vitro approaches and Humane Endpoints for systemic Toxicity Evaluation, Washington, DC (2008)
  - 24) Hajime Kojima, Masahiro Takeyoshi Takashi Omori, Takashi Sozu, Kazunori Arima, Kenji Idehara, Yoshiaki Ikarashi, Yukiko Kanazawa, Eiji Maki, Naoto Nakagiri, Masashi Tanaka, Atsuko Yuasa, and Isao Yoshimura, Inter-laboratory validation study on LLNA-BrdU, 47<sup>th</sup> Annual SOT meeting, Seattle (2008)
  - 25) 小島 肇、日本の動向と JaCVAM の活動、JaCVAM 第1回ワークショップ「昨今の試験法ガイドラインを巡る国際動向」、東京 (2008)
  - 26) 小島肇夫、REACH 対応と動物実験代替法、第128回FJセミナー、東京 (2008)
  - 27) Kojima, H., Japanese Collaboration on Alternative to Animal Toxicology Testing,



- World Congress on in Vitro Biology, Tucson (2008)
- 28) 小島肇、武吉正博、大森崇、寒水孝司、有馬和範、出原賢治、金澤由基子、牧栄二、中桐直人、五十嵐良明、田中正志、吉村功、湯浅敦子:LLNA-BrdU法の施設間バリデーション研究、第35回日本トキシコロジー学会学術年会、東京(2008)
- 29) 小島肇、武吉正博、出原賢治:非RI法による皮膚感作性試験代替法(LLNA法)のバリデーション研究-試験法概要-、第15回日本免疫毒性学会学術大会、東京(2008)
- 30) 出原賢治、小島肇、武吉正博:非RI法によるLLNA法の比較、第38回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会、大阪(2008)
- 31) Kojima, H., International Current of 3Rs International Symposium on the 3Rs Promotion in Asia, Saitama (2008)
- 32) 小島肇: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報告、日本動物実験代替法学会第21回大会、埼玉(2008)
- 33) 杉山真理子、河合敬一、小島肇、寒水孝司、辰見寿、夏秋優、森福義: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報告 皮膚刺激性分科会からの報告、日本動物実験代替法学会第21回大会、埼玉(2008)
- 34) 金澤由基子、横関博雄、中田土起丈、坂口斉、大野泰雄、小島肇: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報告 感作性試験分科会からの報告、日本動物実験代替法学会第21回大会、埼玉(2008)
- 35) 瀬戸 洋一、萩野 滋延、畠 賢一郎、森田 正道、平野 耕治、金子 豊蔵、小島肇: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報告 眼刺激性分科会からの報告、日本動物実験代替法学会第21回大会、埼玉(2008)
- 36) 藤井まき子、小島肇、杉林堅次、上月裕一、桑原裕史: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報告 皮膚透過・経皮吸収試験分科会からの報告、日本動物実験代替法学会第21回大会、埼玉(2008)
- 37) 笠松俊夫、江幡真也、林 真、能美建彦、本間正充、小島肇: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報告 遺伝毒性分科会からの報告、日本動物実験代替法学会第21回大会、埼玉(2008)
- 38) 武吉正博、小島肇、大森崇、寒水孝司、有馬和範、出原賢治、金澤由基子、牧栄二、中桐直人、五十嵐良明、田中正志、吉村功、湯浅敦子:LLNA-BrdU法の施設間バリデーション研究、日本動物実験代替法学会第21回大会、埼玉(2008)
- 39) 小島肇、安藤洋子、山口能宏、小坂忠司、鈴木民恵、湯浅敦子、渡邊幸彦、篠田伸介、出原賢治、吉村 功、宮岡悦良、石山賢也、加藤雅一、大森 崇:培養皮膚モデル LabCyte EPI-MODEL24 を用いた皮膚刺激性試験代替法のバリデーション研究 予備試験結果、日本動物実験代替法学会第21回大会、埼玉(2008)
- 40) 小島肇:in vitro 遺伝毒性試験-光と影-、第37回日本環境変異原学会、沖縄(2008)
- 41) 小島肇:毒性試験における培養細胞の利用、安全性評価研究会2008年冬のセミナー、東京(2008)
- 42) 小島肇:動物実験適正化のグローバルな動き-代替法の動きを中心に-、日本制約工業協会医薬品評価委員会 第102回基礎研究部会総会、京都(2009)
- 43) Kojima, H., Current aspects of LLNA-DA and LLNA-BrdU as alternatives for skin sensitizer classification in Japan, 2009 Winter Conference of Korean Society of Alternatives to Animal Experiments, Seoul (February, 2009)
- 44) 小島肇:バリデーション研究とは何か? & 国際動向、JaCVAM第2回ワークショップ、東京(2009)
- 45) 小島肇:培養皮膚モデルバリデーション研究、JaCVAM第2回ワークショップ、東京(2009)
- 46) 小島肇:動物実験代替法に関する国内外の動向、JALAMシンポジウム「安全性試験における動物実験代替法-国内外の動向と代替法開発の現状-」、大宮(2009)
- 47) 小島肇:動物実験代替法における培養細胞の利用:合同追悼シンポジウム「黒田行昭先生を偲んで」、日本組織培養学会第82回大会、栃木(2009)
- 48) 小島肇:バリデーション試験の今後の予定について、コメントアッセイ国際バリデーション試験進捗報告、日本環境変異原学会 MMS研究会 第54回定例会、熱川(2009)

- 49) 小島 肇、安藤洋子、山口能宏、小坂忠司、鈴木民恵、湯浅敦子、渡邊幸彦、篠田伸介、出原賢治、吉村 功、宮岡悦良、石山賢也、加藤雅一、大森 崇：培養皮膚モデルLabCyte EPI-MODEL24を用いた皮膚刺激性試験代替法のバリデーション研究、第36回日本トキシコロジー学会学術年会、盛岡(2009)
- 50) 小島 肇：OECD Testガイドラインuideline 収載モデルとしてのLabCyte EPI-MODLの可能性、皮膚基礎研究クラスターフォーラム、東京 (2009)
- 51) Kojima, H. : 3D comet assay, JaCVAM experience, 5<sup>th</sup> International Workshop on Genotoxicity Testing, Basel (2009)
- 52) Kojima, H., Yamakage, K., Burlinson, B., Escobar, P., Pant, K., Kraynak, A., Hayashi, M., Corvi, R., Uno, Y., Schechtman, L., Tice, R. and Honma, M.: International validation study of the in vitro alkaline comet assay, 8<sup>th</sup> International Comet Assay Workshop, Perugia (2009)
- 53) Nakajima, M., Masumori, S., Tanaka, J., Hayashi, M., Uno, Y., Kojima, H. and Tice, R.: An atlas of comet images: JaCVAM initiative International Validation trial for the in vivo comet assay, 8<sup>th</sup> International Comet Assay Workshop, Perugia (2009)
- 54) Kojima, H. : Validation of innovative methods for safety testing: drawbacks and advantages of Japanese validation studies, 7<sup>th</sup> World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Rome (2009)
- 55) Kojima, H., Matsui, T., Kohara, A., Yoshida, A. and Nakamura, Y.: GCCP initiatives in Japan, 7<sup>th</sup> World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Rome (2009)
- 56) Ono, A., Takeyoshi, M., Bremer, S., Jacob, M., Laws, S., Sozu, T. and Kojima, H.: The International validation study for the ER alpha STTA antagonist assay using HeLa9903, 7<sup>th</sup> World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Rome (2009)
- 57) Allen, D., Deal, F., Ceger, P., Gordon, J., Pazos, P., deLange, L., Bremer, S., Nakamura, M., Kojima, H., Ono, A., Tice, R. and Stokes W.: Testing of coded substances for a multi-phases international validation study of an estrogen receptor (ER) transcriptional activation (TA) assay, 7<sup>th</sup> World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Rome (2009)
- 58) Kojima, H., Iijima, M., Matsunaga, K., Sasa, H., Itagaki, H., Okamoto, Y., Nishiyama, N., Mita I., Washida, J., Masuyama, K., Onodera, H., Masuda, M., Ohno, Y.: Review of an alternative to animal testing for safety evaluation of cosmetic ingredients using Quasi-drug, 7<sup>th</sup> World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Rome (2009)
- 59) Wind, M., Blakey, D., Kojima, H., Kreysa, J. and Stokes, W.: What is the international cooperation on alternative test methods (ICATM) and what is its role?, 7<sup>th</sup> World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Rome (2009)
- 60) Kojima, H. : JaCVAM's role in the 3Rs and ICATM, 7<sup>th</sup> World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Rome (2009)
- 61) Kojima, H. : Recent progress and future directions at JaCVAM, 7<sup>th</sup> World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Rome (2009)
- 62) Inoue, T., Masuda, M., Akita, M., Kojima, H. and Ohno, Y.: JaCVAM statement on new alternative to animal testing, 7<sup>th</sup> World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Rome (2009)
- 63) Takeyoshi, M., Kojima, H., Omori, T., Sozu, T. and Yoshimura, I.: Validation study for non-radioisotopic local lymph node assay based on BrdU incorporation (LLNA-BrdU), 7<sup>th</sup> World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Rome (2009)
- 64) Kojima, H., Ando Y., Yamaguchi Y., Kosaka T., Suzuki T., Yuasa A., Watanabe Y., Shinoda S., Idehara K., Yoshimura I., Miyaoka E., Ishiyama K., Kato M., Omori T. : Validation of LabCyte EPI-MODEL24, an *In Vitro* Assay for Detecting Skin Irritants, 7<sup>th</sup> World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Rome (2009)
- 65) Yamamoto, N., Hirano, K., Kato, M., Hata, K., Horiguchi, M., Taniguchi, K. and Kojima, H.: Cell surface maker of corneal epithelium stem cells and culture, 7<sup>th</sup> World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Rome (2009)
- 66) Lowther, D., Wind, M., Stokes, W., Barroso, J., Zuang, V., Amcoff, P., Kojima, H., Prinsen, M., Tice, R., Allen, D. and McCall, D.: International acceptance of in vitro alternative ocular safety testing methods: the isolated chicken eye (ICE) test method (Draft OECD テストガイドライン 438), 7<sup>th</sup> World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Rome (2009)
- 67) Merrill, J., Wind, M., Stokes, W., Barroso, J., Zuang, V., Amcoff, P., Kojima, H., Jacobs, A.,

- McCall, D. Allen D. and Tice, R. : International acceptance of in vitro alternative ocular safety testing methods: bovine corneal opacity and permeability (BCOP) test method (Draft OECD テストガイドライン 437), 7<sup>th</sup> World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Rome (2009)
- 68) Hayashi, M., Uno, Y., Honma, M., Schectmann, L., Tice, R., Corvi, R., Morita, T., Asano, N. and Kojima, H.: In vivo Comet Assay: Update on the on-Going international validation study, 7<sup>th</sup> World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Rome (2009)
- 69) Honma, M., Kojima, H., Morita, T., Uno, Y., Asano, N., Nakajima, M., Corvi, R., Tice, R., Schectman, L. and Hayashi, M.: International validation study of the in vitro alkaline comet assay, 7<sup>th</sup> World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Rome (2009)
- 70) Kojima, H., Arai S. and Hojo M.: Adequate conditions for performance of comet assay using 3-dimensional human epidermal model, 7<sup>th</sup> World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Rome (2009)
- 71) Stokes, W., Wind, M., Matheson, J., Jacob., A., Casati, S., Kojima, H., Allen, D., Burns, T., Salicru, E., Strickland, J. and Tice, R., Internationally harmonized performance standards (PS) for the murine local lymph node assay (LLNA), 7<sup>th</sup> World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences, Rome (2009)
- 72) Honma, M., Kojima, H., Morita, T., Uno, Y., Asano, N., Nakajima, M., Corvi, R., Tice, R., Schechtman, L. and Hayashi, M.: International validation study of the in vitro alkaline comet assay, 25<sup>th</sup> ICEM , Florence (2009)
- 73) Uno, Y., Kojima, H., Honma, M., Schechtman, L., Tice, R., Corvi, R., Morita, T., Asano, N. and Hayashi, M.: In vivo Comet Assay: Update on the on-Going international validation study, 25<sup>th</sup> ICEM , Florence (2009)
- 74) 小島 肇 : 動物実験代替法における国内外の動向、日本薬学会関東支部大会、埼玉 (2009)
- 75) 小島 肇 : In vitro 安全性・機能性評価および作用メカニズム・新規物質探索研究の最前線、第 22 回動物細胞工学シンポジウム、東京 (2009)
- 76) 小島 肇 : 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会、日本産業皮膚衛生協会 秋季研修会、京都 (2009)
- 77) Kojima, H.: Japanese views in the 3Rs in the 21st century, ZEBET's 20th Anniversary Symposium, Berlin, Germany (2009)
- 78) Kojima, H.: Organization of JaCVAM and its activity, KoCVAM International Symposium and 6th Congress of KSAAE, Seoul (2009)
- 79) Kojima, H.: Utilization of an alternative to animal testing for safety evaluation of cosmetic ingredients using Quasi-drug, The 17th ICDS (International Contact Dermatitis Symposium) and the 10th APEODS (Asia-Pacific Environmental and Occupational Dermatology Symposium), Kyoto (2009)
- 80) Kojima, H.: Japanese approach to regulatory acceptance of new skin sensitization testings with considerations to animal welfare and 3Rs, The 17th ICDS (International Contact Dermatitis Symposium) and the 10th APEODS (Asia-Pacific Environmental and Occupational Dermatology Symposium), Kyoto (2009)
- 81) 小島 肇、安藤洋子、山口能宏、小坂忠司、鈴木民恵、湯浅敦子、渡邊幸彦、篠田伸介、出原賢治、吉村 功、宮岡悦良、石山賢也、加藤雅一、大森崇 : 培養皮膚モデル LabCyte EPI-MODEL24 を用いた皮膚刺激性試験代替法のバリデーション研究、第 22 回日本動物実験代替法学会総会・学術大会、大阪 (2009)
- 82) 小島 肇、飯島正文、松永佳世子、佐々斉、板垣 宏、岡本裕子、西山直宏、小野寺博志、見田 活、鷺田 淳、益山光一、増田光輝、大野泰雄 : 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報告、第 22 回日本動物実験代替法学会総会・学術大会、大阪 (2009)
- 83) 小島 肇、井上 達、増田光輝、秋田正治、大野泰雄 : 動物実験代替法公定化のための JaCVAM 提案書、第 22 回日本動物実験代替法学会総会・学術大会、大阪 (2009)
- 84) 小野 敦、武吉正博、Susanne Bremer、Miriam Jacob、Susan C. Laws、寒水孝司、小島 肇 : HeLa9903 細胞を用いたエストロゲン受容体転写活性化試験によるアンタゴニスト検出法の国際バリデーション、第 22 回日本動物実験代替法学会総会・学術大会、大阪 (2009)
- 85) 本間正充、山影康次、Burlinson, B., Escobar, P., Pant, K., Kraynak, A., 林 真、中嶋圓、鈴木雅也、Corvi, R., 宇野芳文、Schechtman,

- L., Tice, R., 小島 肇: In vitro アルカリコメットアッセイ国際バリデーション研究、第 22 回日本動物実験代替法学会総会・学術大会、大阪 (2009)
- 86) 小島 肇, 笠松俊夫: IWGT 報告 トピックス 3: 予測性の高い in vitro 試験の提案、日本環境変異原学会第 38 回大会、清水・静岡 (2009)
- 87) 中嶋圓, 小島 肇, 宇野芳文, 本間正充, 林 真: コメットアッセイの国際バリデーション、日本環境変異原学会第 38 回大会、清水・静岡 (2009)
- 88) 小島 肇, 北條麻紀, 新井晶子: 3 次元培養表皮モデルを用いるコメットアッセイと細胞毒性の関係、日本環境変異原学会第 38 回大会、清水・静岡 (2009)
- 89) JaCVAM: コメットアッセイ国際バリデーションプロジェクトチーム: インビボコメットアッセイ: JaCVAM 国際バリデーション試験の進捗状況報告、日本環境変異原学会第 38 回大会、清水・静岡 (2009)
- 90) 伊藤正俊, 関東裕美, 鷺崎久美子, 松永佳世子, 矢上晶子, 中川真美子, 加藤則人, 河合恵一, 滝脇弘嗣, 吉村 功, 小島 肇: パッチテストによる皮膚一次刺激性評価 (2)、第 39 回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会総会学術大会、京都 (2009)
- 91) 中村昌文, 半田洋士, 小野 敦, 小島 肇: Lumi-cell ER アッセイ法の国際バリデーション(第二報)、第 12 回環境ホルモン学会研究発表会、東京 (2009)
- 92) 小島 肇, 飯島正文, 松永佳世子, 佐々斉, 板垣 宏, 岡本裕子, 西山直宏, 小野寺博志, 見田 活, 鷺田 淳, 益山光一, 増田光輝, 大野泰雄: あり方検討会設立の経緯および動物実験代替法の現状、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資料のあり方検討委員会報告、東京 (2009)
- 93) 山本直樹, 平野耕治, 谷川篤宏, 加藤雅一, 畠賢一郎, 小島 肇, 綾木雅彦, 堀口正之, 谷口孝喜: 角膜上皮細胞における組織幹細胞マーカーの検索と初代分離培養法および遺伝子導入法の検討、日本組織培養学会第 82 回大会、栃木 (2009)
- 94) 山本直樹, 平野耕治, 谷川篤宏, 加藤雅一, 畠賢一郎, 小島 肇, 綾木雅彦, 堀口正之, 谷口孝喜: 角膜上皮細胞の組織幹細胞マーカーと初代分離培養法および遺伝子導入法の検討、第 41 回日本臨床分子形態学会総会・学術集会、神戸 (2009)
- 95) 小島 肇: 今後の展望、JaCVAM 第 3 回ワークショップ、h-CLAT シンポジウム、東京 (2010)
- 96) Kojima, H., Arai, S. and Hojyo, M.: Adequate conditions for performance of comet assay using 3-dimensional human epidermal model, 49<sup>th</sup> Annual SOT meeting, Salt Lake City (2010)
- 97) W Stokes, M Wind, D Blakey, J Kreysa, H Kojima, E Anklam: Establishment of the International Cooperation on Alternative Test Methods (ICATM) and Its Role in the Validation and Regulatory Acceptance of Globally Harmonized Safety Assessment Methods, 49<sup>th</sup> Annual SOT meeting, Salt Lake City (2010)
- 98) P Ceger, F Deal, D Allen, G Clark, P Pazos, J de Lange, S Bremer, M Nakamura, H Kojima, A Ono, R Tice, W Stokes, Testing of Coded Substances in the NICEATM/ECVAM/JaCVAM LUMI-CELL<sup>®</sup> STTA Multiphase International Validation Study, 49<sup>th</sup> Annual SOT meeting, Salt Lake City (2010)