

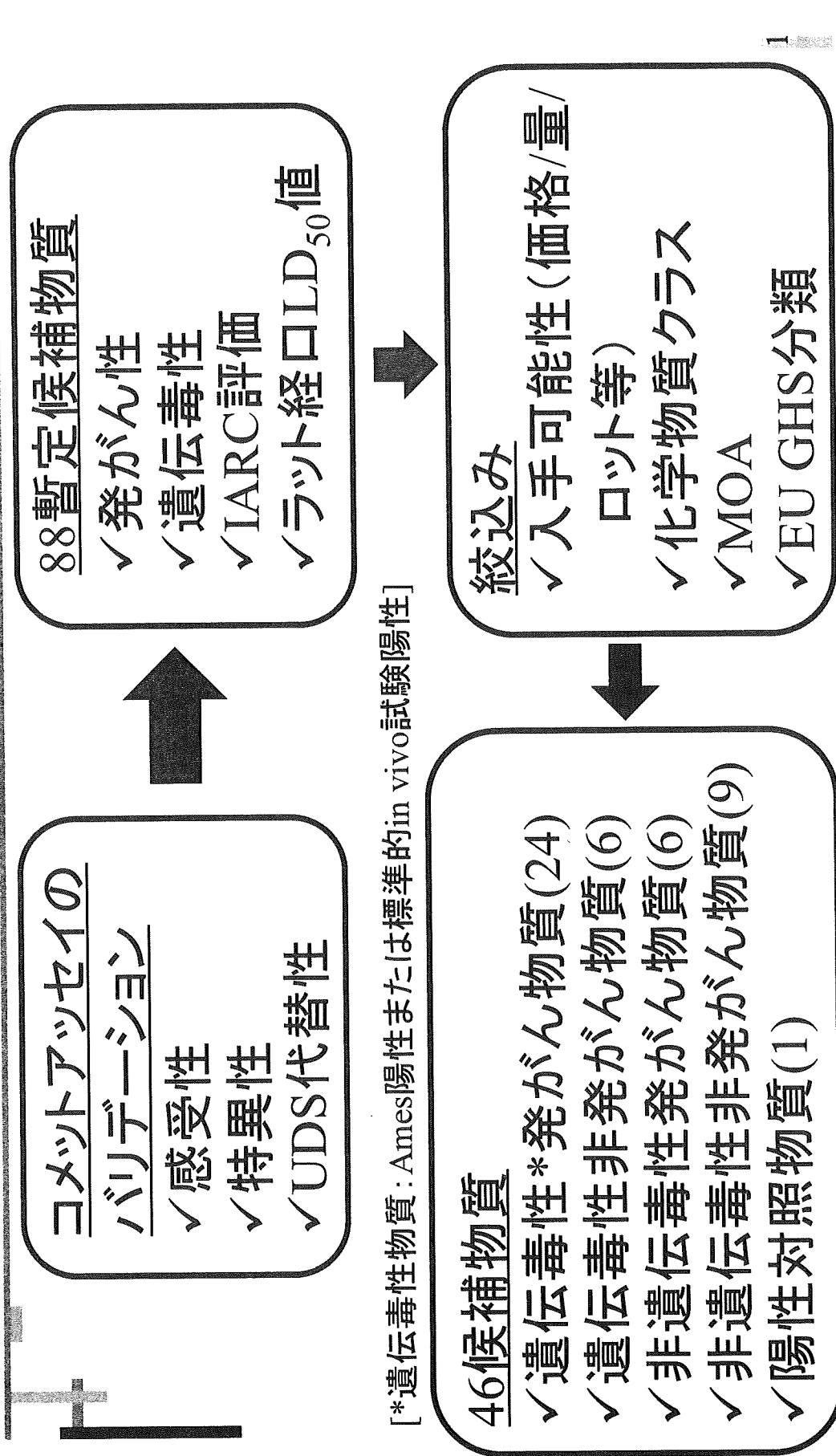
- 48) 中村昌文、半田洋士、小野 敦、小島 肇 : Lumi-cell ER アッセイ法の国際バリデーション(第二報)、第12回環境ホルモン学会研究発表会、東京(2009)
- 49) 小島 肇、飯島正文、松永佳世子、佐々 齊、板垣 宏、岡本裕子、西山直宏、小野寺博志、見田 活、鷺田 淳、益山光一、増田光輝、大野泰雄:あり方検討会設立の経緯及び動物実験代替法の現状、医薬部外品の製造販売承認申請における安全性に関わる資料のあり方検討委員会報告、東京(2009)
- 50) 山本直樹、平野耕治、谷川篤宏、加藤雅一、畠賢一郎、小島 肇、綾木雅彦、堀口正之、谷口孝喜:角膜上皮細胞における組織幹細胞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)
- 51) 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)
- 52) 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)
- 53) Kojima, H., Arai, S. and Hojyo, M.: Adequate conditions for performance of comet assay using 3-dimensional human epidermal model, 49th Annual SOT meeting, Salt Lake City (2010)
- 54) Stokes, W., Wind, M., Blakey, D., Kreysa, J., Kojima, H., Anklam E.: 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, 49th Annual SOT meeting, Salt Lake City (2010)
- 55) Ceger, P., Deal, F., Allen, D., Clark, G., Pazos, P., de Lange, J., Bremer, S., Nakamura, M., Kojima, H., Ono, A., Tice, R., Stokes, W.: Testing of Coded Substances in the NICEATM/ECVAM/JaCVAM LUMI-CELL[®] STTA Multiphase International Validation Study, 49th Annual SOT meeting, Salt Lake City (2010)
- 56) Morita, T., Hayashi, M., Nakajima, M., Tanaka, N., Tweats, DJ, Morikawa, K., Sofuni, T.: Practical decision tree for germ cell mutagens in GHS classification, 10th ICEM, Firenze, Italy, Aug. 2009
- 57) Morita, T. : Concentration: Considering

the 1 mM Limit, Experience and Data from Japan, 5th International Workshop on Genotoxicity Testing (IWGT), Aug. 17-19, 2009.

I. 添付資料

資料1: 被験物質選択の流れ

被験物質選択の流れと要点



[*遺伝毒性物質：Ames陽性または標準的in vivo試験陽性]

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版者名	出版地	出版年	ページ
大野泰雄	非臨床試験法をめぐる新たな流れ-JaCVAMの活動を中心に-	(財) 日本薬剤師研修センター	医薬品GLPガイドブック2009	薬事日報社		2009年	6-31
大野泰雄	日本薬理学会の動物実験指針と動物実験の第三者評価について	(社) 日本薬理学会	実験薬理学 実践行動薬理学	株式会社金芳堂	京都	2010年	337-347
小島肇夫	薬用化粧品の承認取得における安全性試験をめぐる問題点	Fragrance Journal 編集部	医薬部外品有効成分承認取得のための対策と課題	フレグランスジャーナル社	東京	2010年	48-58
小島肇夫	医薬部外品と化粧品		<改正省令を踏まえた>GLP/非GLP試験の具体的実施ポイント	株式会社情報機構	東京	2009年	425-433
小島肇夫	皮膚・粘膜毒性	日本トキシコロジー学会教育委員会	新版 トキシコロジー	株式会社朝倉書店	東京	2009年	246-254

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
小島肇夫	REACHにおける環境影響試験法	FRAGRANCE JOURNAL	Vol. 37 No. 8	46-51	2009
小島肇夫	実験動物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	Vol. 26 No. 8	42-49	2009
小島肇夫	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	Vol. 17	57-62	2009
小島肇夫	現在の動物実験代替法の状況について	LABIO 21	No. 38	17-20	2009
小島肇夫	医薬部外品の製造販売承認申請における安全性の資料に関するあり方検討会報告	日皮協ジャーナル	No. 63	82-91	2010

2

非臨床試験法をめぐる新たな流れ

—JaCVAMの活動を中心に—

はじめに

動物実験は、科学の発展と人類の福祉に不可欠なものである。これまでの医薬品・医療機器、農薬、その他新規化学物質等の開発では、主に動物実験により安全性を検証してきた。これに対し、動物愛護の観点から非臨床試験における動物の扱いについても配慮が要求されてきた。現時点では、倫理的、科学的に妥当な動物実験を行うことにより社会の理解を得る努力が必要である。

表1 動物実験の適切性については、欧米では古くから社会の関心が深く、1954年には、動物実験における3R(refinement, reduction, replacement)の原則が Russel & Burch (1954) により示された。動物実験代替法とは「科学研究や教育、毒性試験、生産等の目的のために動物を用いる方法を動物を用いない方法に置き換えること (replacement) であり、動物使用数の削減 (reduction) や動物使用に伴う苦痛の削減 (refinement) を含む (Russel & Burch 1959)」と定義された。

日本においても適正な動物実験実施のために具体的な配慮を行う必要性が高まり、昭和55年に学会会議で「動物実験ガイドラインの策定について」という勧告が出された。これに基づき当時の文部省から「大学等における動物実験について」の基本的な考え方が示された。しかし、日本国内に統一的なガイドラインがなかったことから、日本は動物実験における動物福祉の問題を重視していないといった批判が生まれた。そこで、平成16年に日本学会会議は「動物実験に対する社会的理解を促進するために」という提言の勧告を再度行った。主な目的は、統一的なガイドラインの策定及び自主管理の客観性や透明性確保のための第三者評価の実施であった。

表1 動物実験の適正な実施のために

日本学術会議「動物実験ガイドラインの策定について」	(昭和55年勧告)
文部省「大学等における動物実験について」	(昭和62年文部省学術国際局長通知)
↓	
日本学術会議「動物実験に対する社会的理解を促進するために(提言)」	(平成16年)
①国内統一ガイドラインの策定	
②自主管理の客観性・透明性確保のための第三者評価	

表2 平成17年には、「動物の愛護及び管理に関する法律」が改正され、動物実験や実験動物に関する記述が組み込まれ、前記の代替法に関する3Rの原則が盛り込まれ、それらを考慮して実施すべきことが要求されるようになり、違反する場合には罰則が伴うこととなった。

この改正に続き、環境省は「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」を策定し、動物実験の取り扱いに関する基本的な考え方を通知した。

表2 実験動物の適正な飼養及び保管

「動物の愛護及び管理に関する法律」の改正	(平成17年法律第68号)
「苦痛の軽減」に加え「代替法の利用」「動物利用数の削減」が盛り込まれ、「3Rの原則」が明記された。	
環境省「実験動物の飼養及び保管並びに苦痛の軽減に関する基準」の策定	(平成18年環境省告示第88号)
法律改正を受け、動物の福祉の観点から3Rの原則を盛り込んだ実験動物の取り扱い等が規定された。	

表3 また、文部科学省・厚生労働省・農林水産省の各省は、それぞれ所掌する分野における動物実験についての基本指針を作成した。内容は、いずれもほとんど同様であり、実施機関長の責務、実験責任者の責務、動物実験委員会の設置と役割、動物実験等の実施上の配慮、実験動物の飼養及び保管、その他であった。なお、文部科学省と農林水産省の指針には、動物実験の第三者評価を実施することに努めるとの記載があったが、厚生労働省の指針には入っていなかった。しかし、その必要性について厚生労働省の傘下の研究機関や動物実験施設においても認識され、日本製薬工業協会の希望もあり、HS財団は第三者評価のシステムを構築し、2008年より事業を開始した。

一方、指針ができ、動物実験に関する3Rの原則が示されたとしても、実際に

どんな代替法があるのか、動物の苦痛の軽減のためにはどうしたらよいのか、について具体的に示されないと動物実験委員会での審議に不都合である。また、現在の方法が不十分であるならば、新たに代替法を開発する必要がある。そこで、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 薬理部内に動物実験代替法の開発と評価にかかわる JaCVAM (正式名称:「新規試験法評価室」) が設立された。本項では JaCVAM と、代替法の現状とその開発状況について解説する。

表3 動物実験に関する指針 (2006.6.1)

基本指針	(文部科学省, 厚生労働省, 農林水産省)
<ul style="list-style-type: none"> ・実施機関長の責務 ・動物実験責任者の責務 ・動物実験委員会の役割 ・動物実験等の実施上の配慮 <ul style="list-style-type: none"> ○ 科学的合理性の確保: 適正な動物実験等の方法の選択 (代替法の利用, 実験動物の選択, 苦痛の軽減) ○ 安全管理 ・実験動物の飼養及び保管 ・その他: 当該研究機関等以外の者による検証を実施することに努める (文部科学省, 農林水産省) 	
詳細指針	
<ul style="list-style-type: none"> ・日本学術会議「動物実験の適正な実施に向けたガイドライン」 	

1 動物実験代替法

表4 現在、日本で公的に認められている *in vitro* の安全性試験法には、遺伝毒性試験、染色体異常試験、プラスチック製の医療機器の溶出液の安全性評価のための細胞毒性試験、及び注射剤のエンドトキシン検出のためのリムラス試験がある。後二者は日本薬局方に記載されているものである。また、化粧品・医薬部外品製造申請ガイドブックの化粧品・医薬部外品の安全性評価の項に、厚生労働省の考えとして化粧品原料の眼刺激性評価のために代替法を使ってもよいとの記載がある。ただし、これには妥当な方法があればという条件がついている。厚生科学研究班 (主任研究者: 大野泰雄) の報告として *in vitro* と *in vivo* の試験法を組み合わせた化粧品原料の眼刺激性評価に関する指針案が示されている (1999)。一方、OECD は動物福祉を考慮に入れて、さまざまなガイドラインの改訂を行ってき

た。別に規制がなされていない限り、それらも日本で利用できる。また、医薬品の承認申請資料の国際的ハーモナイゼーションのためのICHでも、3Rの原則に則った毒性試験の改訂が多くなされてきた。

表4 日本で公的に認められている代替法

<ul style="list-style-type: none"> ・ 遺伝毒性試験 ・ 染色体異常試験 ・ プラスチック製医療用具溶出液の安全性評価のための細胞毒性試験 (JP) ・ 注射剤のエンドトキシン検出のためのリムラス試験 (JP) ・ 化粧品原料の眼刺激性試験代替法 (妥当な方法があればとの条件付) ・ OECD ガイドライン ・ ICH ガイドライン ・ <i>In vitro</i> 眼刺激性試験ガイドライン案 (1999)

2 世界の動物実験代替法

表5-1 OECDは、特に急性毒性試験に対する世論の反対が非常に強かったため、急性の経口毒性試験の従来の方法(指針番号401)が2002年12月に廃止され、それに代わるものとして、より少数の動物で概略の致死量が検出でき、毒性症状の検出もできる固定用量法(420)、急性クラス分け法(423)、及びアップアンドダウン法(425)の三つの方法が承認された。また、新規の試験法の徹底をはかるために、2003年以後に401に従って実施された試験結果を受け入れないとの決定を行った。

反復経口授与の毒性試験についても、今までの方法より多くの情報を得るための改訂がなされた(407-409)。

表 5-1 動物福祉を考慮して OECD で改訂/新規導入された毒性試験法ガイドライン
(例 1)

急性経口投与毒性試験	Red.: reduction
401 Acute Oral Toxicity (2002.12.20廃止)	Ref.: refinement
420 同上 Fixed Dose Method (2001.12.20改訂: Red.)	
423 同上 Acute Toxic Class Method (2001.12.20改訂: Red.)	
425 同上 Up-and-Down Procedure (2001.12.20改訂: Red.)	
反復経口投与毒性試験	More inf.: more information
407 Repeated Dose 28-Day Oral Toxicity Study in Rodents (1995. 7. 27改訂: More inf.)	
408 Repeated Dose 90-Day Oral Toxicity Study in Rodents (1998. 9. 21改訂: More inf.)	
409 Repeated Dose 90-Day Oral Toxicity Study in Non-Rodents (1998. 8. 21改訂: More inf.)	

表 5-2 急性の皮膚腐食性試験においても、動物使用数の削減 (402) や、*in vitro* のスクリーニングも用いてなるべく動物に苦痛を与えないようにされた (404)。また、皮膚の電気抵抗の変化に適した試験系で調べることによって評価を行う方法 (430) や、ヒト皮膚モデルを使った方法 (431)、膜のバリアの能力を調べることによって皮膚腐食性を評価する方法 (435) 等の *in vitro* の方法が導入された。

眼刺激性試験についても、*in vitro* の方法を組み込むことによって強いものは排除したうえで、ある程度の刺激性のものか無刺激性のものを動物で確認するといったスキームが示された (405)。

皮膚感作性試験についても、従来の方法を改良する (406) とともに新たに Local Lymph Node Assay という、感作処置は行うが、惹起は行わず、動物に与える苦痛がより少ない方法が導入された (429)。

表 5-2 動物福祉を考慮して OECD で改訂/新規導入された毒性試験法ガイドライン (例 2)

皮膚腐食性試験
402 Acute Dermal Toxicity (1987. 2 .24改訂 : Red)
404 Acute Dermal Irritation/Corrosion (2002. 4 .24改訂 : Ref, Red, vitro screen)
430 Transcutaneous Electrical Resistance Test (TER) (2004. 4 .13)
431 Human Skin Model Test (2004. 4 .13)
435 In Vitro Membrane Barrier Test Method for Skin Corrosion (2006. 7 .19)
眼刺激性/腐食性試験
405 Acute Eye Irritation/Corrosion (2002. 4 .24改訂 : Ref, Red, vitro screen)
皮膚感受性試験
406 Skin Sensitisation (1992. 7 .17改訂 : Red.)
429 Local Lymph Node Assay (2002. 4 .24改訂 : Ref. More inf.)

表 5-3 生殖毒性試験についても、動物使用数削減に向けた改訂がなされた(414, 421)。光毒性試験については、3T3細胞を用い、neutral red 取り込みを指標とする *in vitro* の方法が2004年に導入された (432)。皮膚吸収性試験についても、2004年に *in vivo* 及び *in vitro* の方法が同時に導入された (427, 428)。

表 5-3 動物福祉を考慮して OECD で改訂/新規導入された毒性試験法ガイドライン (例 3)

生殖毒性試験
414 Prenatal Developmental Toxicity Study (2001. 1 .22改訂 : Red. More inf.)
421 Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test (1995. 7 .27 : Red.)
光毒性試験
432 In Vitro 3T3 NRU Phototoxicity Test (2004. 4 .13)
皮膚吸収性試験
428 Skin absorption : In Vitro Method (2004. 4 .13)

表 5-4 表 5-5 現在も、動物の福祉を考慮した試験法の改訂が行われている。すなわち、

亜急性吸入毒性試験 (412), 亜慢性吸入毒性試験 (413), 発がん性試験 (451), 慢性毒性試験 (452), 慢性毒性試験に発がん性を組み込んだ試験法 (453), 及び眼の腐食性試験や強い刺激性を評価するための方法として *in vitro* の方法が検討されている。摘出ウシ角膜の混濁を見る方法, 摘出ニワトリ眼を用いる方法, *in vitro* の皮膚刺激性試験, エストロゲン受容体に作用する内分泌攪乱物質の評価に関する方法等も検討されている。哺乳動物細胞を用いた小核試験も検討されている。

表 5-4 OECD Draft guidelines (1)

<ul style="list-style-type: none"> — 412 : Subacute Inhalation Toxicity : 28-Day Study — 413 : Subchronic Inhalation Toxicity : 90-Day Study • 451 : Carcinogenicity studies • 452 : Chronic Toxicity Studies • 453 : Combined Chronic Toxicity/Carcinogenicity Studies • Ocular Corrosives and Severe Irritants : <ul style="list-style-type: none"> The Bovine Corneal Opacity and Permeability Test Guideline The Isolated Chicken Eye (Ice) Test Guideline • One-Generation Reproductive Toxicity Test Guideline In Vitro Skin Irritation : Human Skin Model Test Stably Transfected Human Estrogen Receptor-α Transcriptional Activation Assay for Detection of Estrogenic Agonist Activity of Chemicals

表 5-5 OECD Draft guidelines (2)

<ul style="list-style-type: none"> • 412 : Subacute Inhalation Toxicity (Version 3, March 2008) • 413 : Subchronic Inhalation Toxicity (Version 2.5, March 2008) • 487 : <i>In Vitro</i> Mammalian Cell Micronucleus Test (MNvit) (Version 3, 13 December 2007) • 407 : Repeated Dose 28-Day Oral Toxicity Study in Rodents ; Updated with Parameters for Endocrine Effects (December 2007 version) <u>Draft Test Guidelines awaiting approval or publication</u> • Acute Inhalation Toxicity (October 2002) • 433 Acute Inhalation Toxicity-Fixed Dose Procedure (June 2004) • 434 Acute Dermal Toxicity-Fixed Dose Procedure (May 2004) • 436 Acute Inhalation Toxicity-Acute Toxic Class Method (December 2004)

表 6

一方, 新しい安全性試験法を従来の方法に替わるものとして, 本当に行政的に役に立つ方法であることを確認する必要がある。その受け入れ基準については,

1996年のOECDの会議で定められたが(表6)、少なくとも既存の方法と比べ、リスクアセスメントの目的のために、同等以上の能力を有する必要がある。その後、この内容は正式な文書として出された(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, 2005)。

表6 安全性評価のための新規試験法の行政的受け入れ基準要約(OECD 1996)

- 1) 関心のある毒性指標を十分に predict できるデータが提示
- 2) 新しい方法と既存の方法との間の関係や、新しい方法と標的動物種との関係について記述されている
- 3) リスクアセスメントの目的のために、既存の方法と比較し同等以上、望むらくはそれ以上の価値を有するとのデータがある
- 4) 行政的に取り扱われる化学物質や製品の代表例についての十分なデータがある
- 5) 試験法は堅牢で移転可能
- 6) 高度に特異化された機器や物質、専門的知識が必要な場合は、移転性を高める努力がなされている
- 7) 経済的であり、使用される可能性が高い
- 8) 既存の方法と比較し、科学的、倫理的、経済的に優れている

表7 行政として、新たな安全性試験法を受け入れられるかどうかということ判断するためには、表7で示されたような基準も満たすことを適切なバリデーションを行い、試験法の妥当性を検証する必要がある。しかし、そのようなバリデーションを実施し、正しく評価し、行政試験法として受け入れるための資料を整えるのは容易ではない。

表7 行政目的のための安全性評価新規試験法の最低基準要約(OECD 1996)

- 1) 試験法の適切性に関する情報がある(科学的な必要性、行政的目的を含む)
- 2) 測定指標と毒性との関係について記述がある
- 3) 代謝能のような試験法の限界について記述がある
- 4) 正式かつ詳細なプロトコルがあり、一般のものが入手可能
- 5) 試験法とその結果は、独立した査読された出版物として得られる
- 6) 試験施設内外における反復性や再現性が示されている
- 7) コード化被験物質を用いて試験法の performance が示されている
- 8) 試験法の performance が既存の毒性試験と比較されている
- 9) 試験法の妥当性を評価するため全データが査読可能である
- 10) 理想的には GLP 原則に則ってデータが得られている

図1 そこで動物実験代替法を専門的に開発・評価する研究拠点が必要であるとして、EUはECVAM (European Center for the Validation of Alternative Methods)をイタリア北部のイスプラに設立し、代替法の開発と評価を開始した。また、米国はICCVAM (The Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods)が中心になって代替法の評価を実施している。これらとは別に、代替法に関する研究機関として、ドイツにはZEBET (Centre for Documentation and Evaluation of Alternatives to Animal Experiments), オランダにはNCA (Netherlands Centre Alternatives to animal use), 米国にはJohn's Hopkins大学内にCAAT (Center for Alternatives to Animal Testing), NC3Rs (National Centre for the Replacement, Refinement, and Reduction of Animals in Research), ポーランドにはVitryna (National Centre for Alternative Methods in Toxicity Assessment)が設立された。また、イギリスには民間団体としてFRAME (Fund for the Replacement of Animals in Medical Experiments)が設立された。

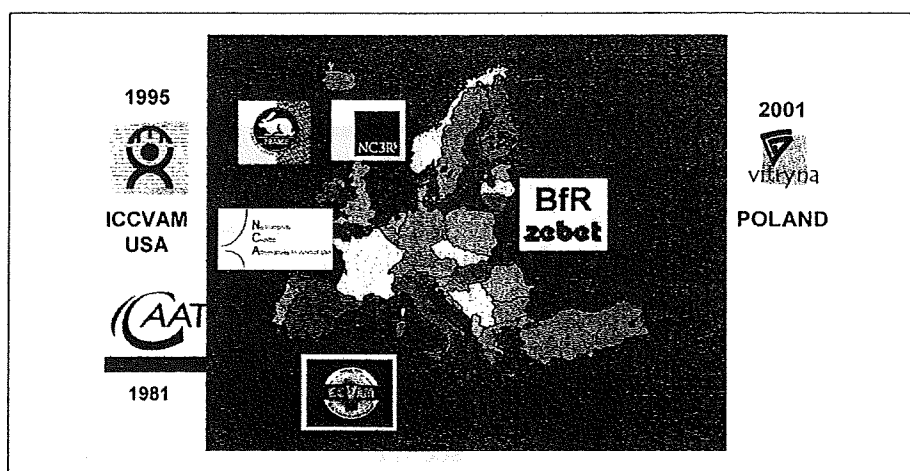


図1 世界の動物実験代替法研究拠点

表8 図2 ECVAMは、1991年にEU委員会のJoint Research Centerに属する機関として設立されたもので、それ以来多くの動物実験の代替法についてのバリデーションと評価を実施してきた。2006年までに、さらに25の方法についてバリデーションしている。現在は、化粧品の安全性評価に関するEU指令(2003年の第七改正)に基づく、化粧品の安全性評価のための動物実験を全廃するために、動物実験を伴わない評価法の開発と評価を行ってきた。最近では、2007年に出た化学物質管理に関する制度(REACH: Registration, Evaluation, Authorisation and

Restriction of Chemicals)に基づき、多くの化学物質の安全性評価が企業に課せられることとなったが、そのための動物実験を削減するための代替法開発にも関与している (後記).

表8 ECVAMの概要

- Animal welfare directive 1986 (86/609/EEC)
- Established 1991
- 16 methods validated until 2002
- Business plan and reorganisation 2003 responding to 7th amendment of the cosmetic directive 2003 emerging REACH legislation 2007
- 9 methods validated 2006
- 63 staff members
- Reorganisation 2007 (more drug, vaccine, food, nanotox plus CORRELATE)

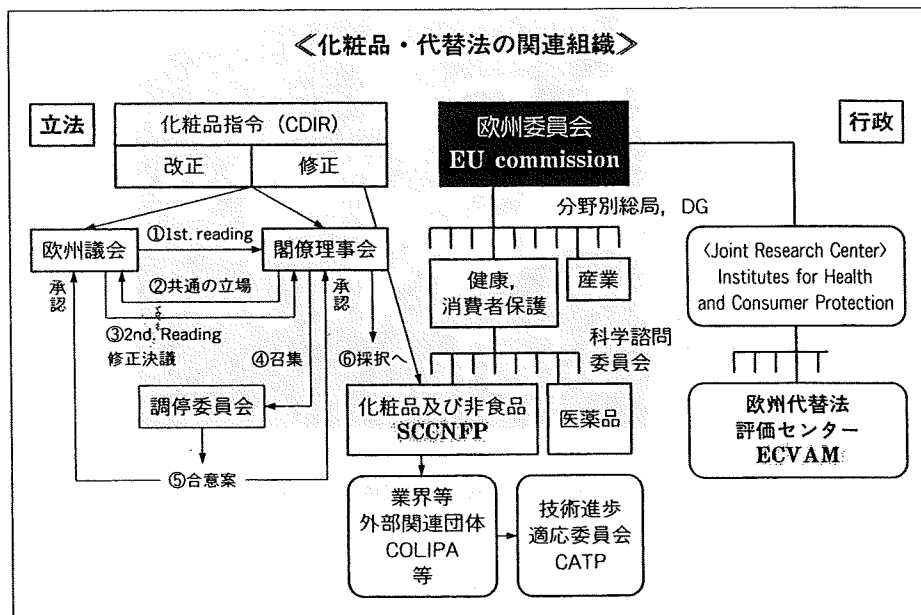


図2 欧州 (EU) における規制組織

図3表9 米国では1994年に、ICCVAMを臨時委員会としてNational Institute of Environmental Health Sciences (NIEHS)の基に設立した。これは安全性試験代替法のバリデーションと行政的受け入れ基準を検討するために設立されたものであり、それが1997年に達成された後、NIEHSはICCVAMを常設委員会(Standing Committee)とし、新規試験の開発とバリデーション、受け入れ、及び国際調和のための作業と15省庁間の調整を開始した(表9)。また、ICCVAMの活動をサポートする機関としてNTP Interagency Center for the Evaluation of Alternative Toxicological Methods (NICEATM)を1998年に設立した。また、2000年にはICCVAM Authorization Actが認められ、NIEHS傘下の永続委員会(Permanent Committee)とされた。ICCVAMの目的は、動物を用いる安全性試験の純化と置き換えと、ヒトや動物、環境を守るために、科学的に妥当な新規及び改良安全性試験法の行政的受け入れを促進するためのガイドラインの作成や勧告、施策検討を行うことにある。なお、評価された方法を構成省庁が取り入れるかどうかは、それぞれの行政目的に基づく判断による。

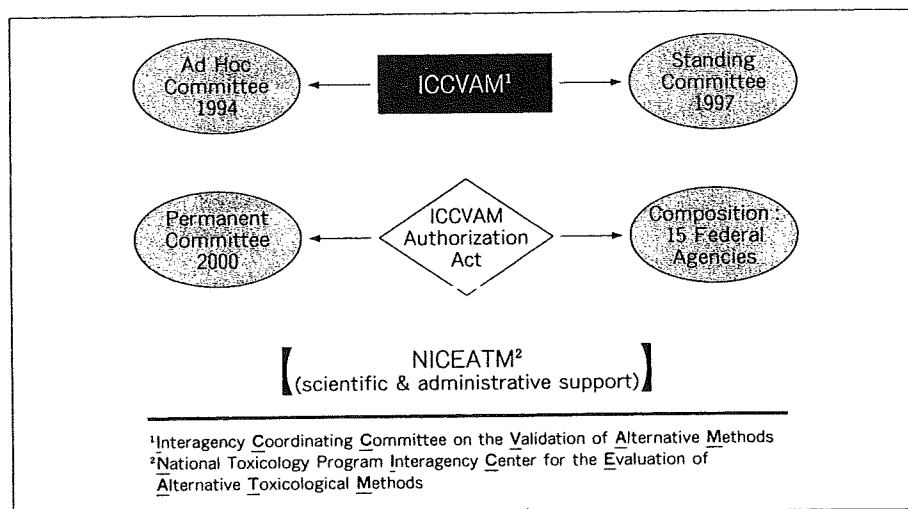
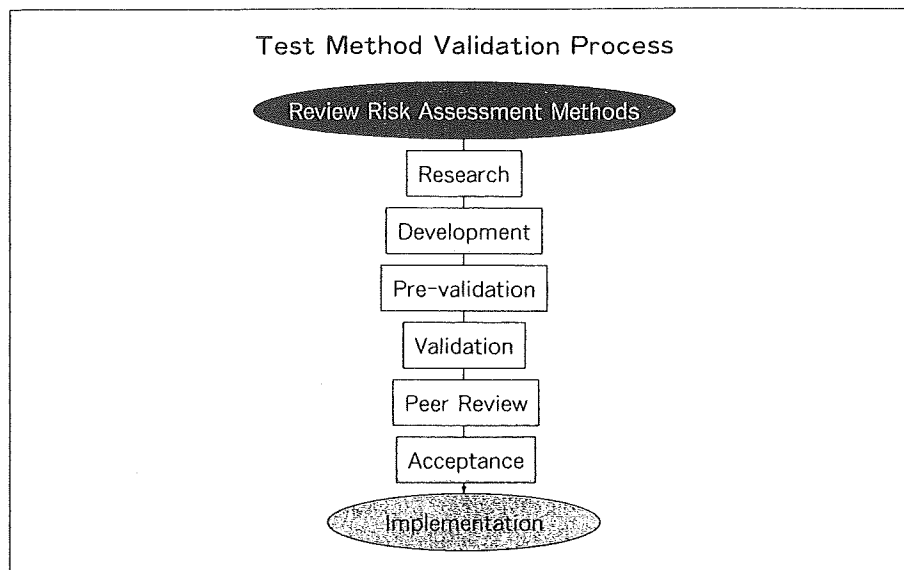


図3 ICCVAMの概要

表9 ICCVAMの組織

<i>Regulatory/Research</i>	<i>Non-Regulatory/Research</i>
■ Consumer Product Safety Commission	■ Agency for Toxic Substances and Disease Registry
■ Department of Agriculture	■ Department of Defense
■ Department of Interior	■ Department of Energy
■ Department of Transportation	■ National Cancer Institute
■ Environmental Protection Agency	■ National Institute of Environmental Health Sciences
■ Food and Drug Administration	■ National Institute for Occupational Safety and Health
■ Occupational Safety and Health Administration	■ National Library of Medicine
	■ National Institutes of Health

図4 図4は、ICCVAMで動物実験代替法の取り入れを検討するためのプロセスである。まず、リスクアセスメントのための方法をレビューし、ICCVAMの目的に添った新しい方法がないかを検討し、適切であると予想される方法があれば、それをプレバリデーションする。これでよい結果が得られれば、さらにバリデーションを進め、本格的なバリデーションの結果が得られたところで、結果をピアレビューし、受け入れるかを判断する。この報告に基づき、行政機関が最終的な受け入れを決定する。このプロセスは日本でもヨーロッパでも同じである。



(ICCVAM Guideline より)

図4 ICCVAMにおける試験法バリデーションのプロセス

図5 評価項目は、図5に示されたように、試験法の定義、施設内バラツキ、技術移転可能性、施設間バラツキ、目的とする毒性に対する予測能、適用範囲、行政試験法としてのパフォーマンス等であり、そのいずれにおいても問題がなければ受け入れられる。

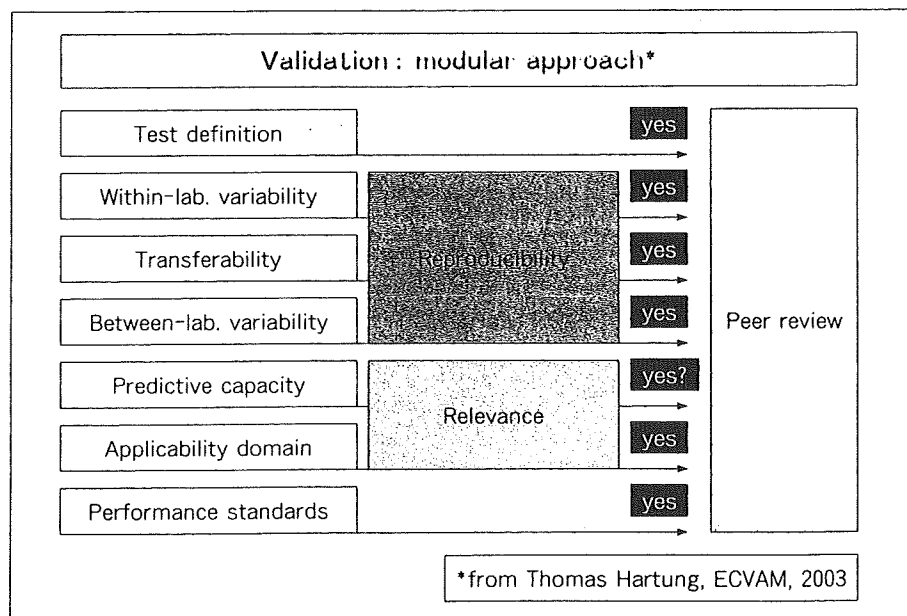
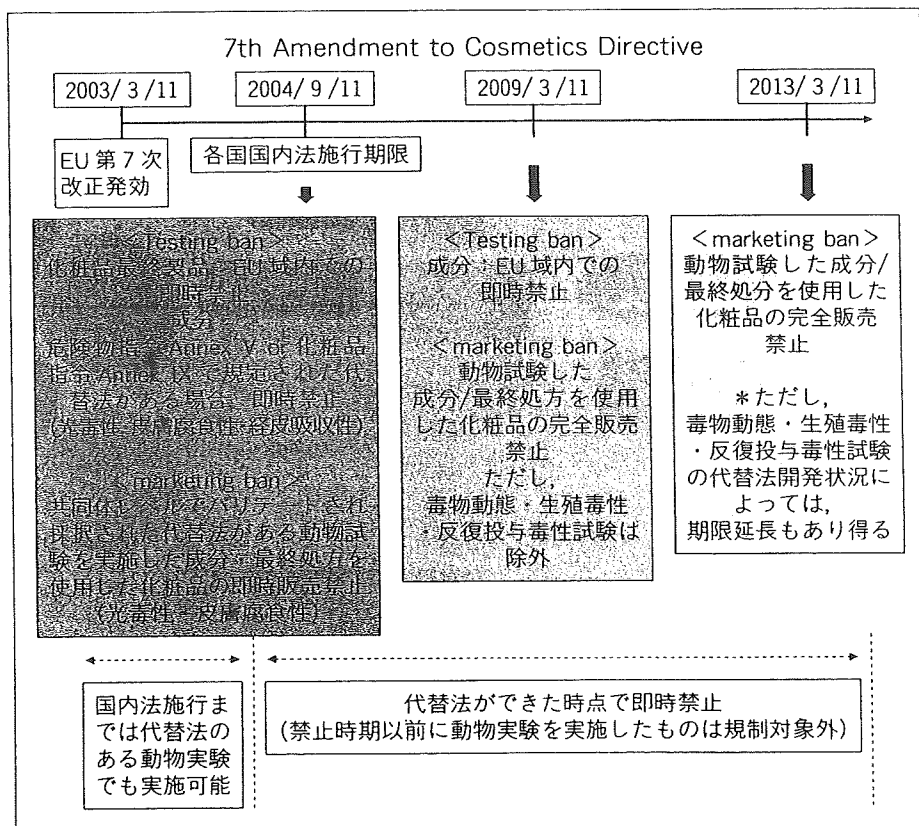


図5 ECVAMにおける試験法バリデーション

3 世界の実験動物に関する主な動向

図6 EUでは、1993年に化粧品の安全性評価に関する指令において、適切な代替法があればという前提付きではあるが、1998年までには実験動物を用いて安全性を評価した化粧品原料及び最終製品の販売を禁止することに決めた。しかし、代替法の開発・バリデーションが十分でなかったことから、その施行を2000年6月30日まで延期した。その後、2002年6月末まで再度延期された。その再々延長に関する化粧品指令第7次改正の施行がEU議会で認められ、2003年3月11日付けで交付された。その内容は、① ECVAMやOECDで承認された代替法がある試験はすべて即時禁止、②2009年までに動物を用いるすべての安全性試験を全面的に禁止、及び動物実験を行った化粧品の販売禁止、ただし、③薬物動態試験や生殖発生毒性試験、反復投与毒性試験等の全身的な作用を検討する試験については2013年まで猶予する、というものである。



(豊田英一：Fragrance Journal, 2005年2月号, p.17の図1を一部改変)

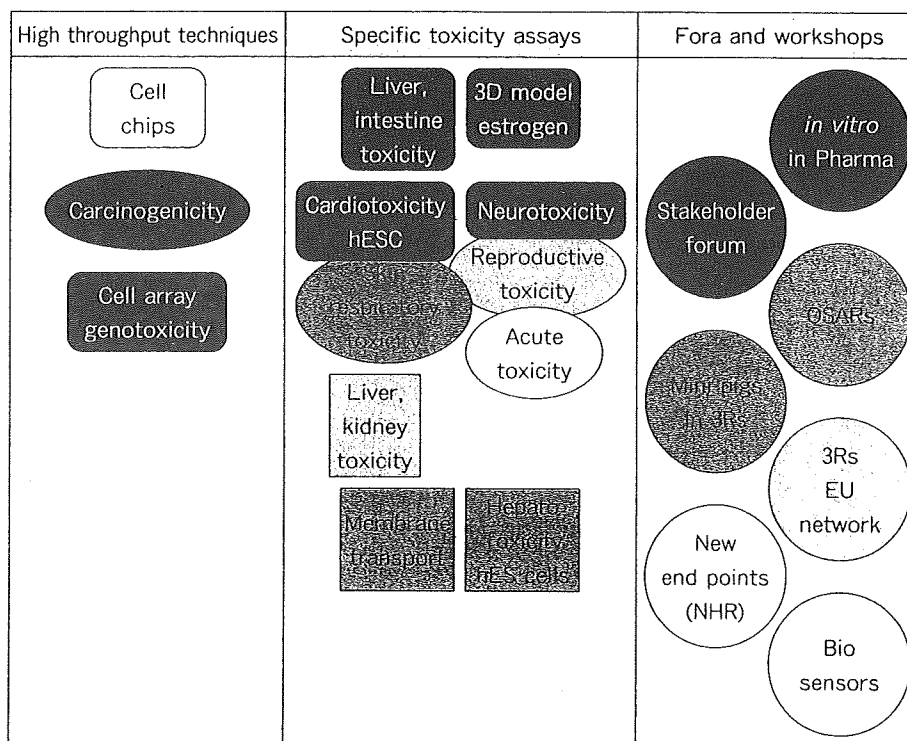
図6 欧州(EU)における化粧品規制

図7 EUは、人の健康と環境の保護、欧州化学産業の競争力の維持向上等を目的とし、新たな化学物質の総合的な登録・評価・認可・制限の制度を、2007年よりREACHとして開始した。この制度では、医薬品や農薬は対象外であるが、ヨーロッパで使われている化学物質について、安全性評価や取り扱いに関する情報の共有を強化するために、現在ある化学物質や、これから開発される化学物質の安全性に関するデータを集める仕組みである。

化学物質の安全性評価をするためには、さまざまな安全性試験を行う必要があり、そのためにはきわめて多くの動物を使うことから、なるべく動物を使わない試験方法を開発するための大きなプロジェクトが進んでいる。

ECVAMではREACHへの対応として、生殖毒性の評価のための方法や急性毒性のための方法、アレルギーの評価のための方法、遺伝毒性と発がん性を評価するための方法等について、それぞれプロジェクトを組んで検討を進めている。現在、21個の試験法についてプロジェクトを組み、6,330万ユーロを投資して検討されている。さらに次年度については、3,040万ユーロを用いる計画が立てられている。

〈代替試験戦略研究プロジェクトの主なトピックについて〉



だ円：統合されたプロジェクト 四角：特定の研究プロジェクト 丸：特定のサポート活動

図7 ECVAMにおける代替試験法

表10-1 表10-2 表10-1 表10-2は、ECVAMで検討している試験法が、現在どのような状況にあるのかを示している。皮膚腐食性、光毒性、皮膚刺激性、眼強刺激性については、すでに評価が終了している。前述したように、皮膚吸収/透過性試験については、すでにOECDでガイドライン化されている。

表10-1 ECVAMにおける代替試験法の状況 (1)

Toxicological endpoints for which methods are ready before
2009 and 2013

Toxicological endpoint	ESAC statement	Accepted in the Guidelines
Skin corrosion	Already validated ECAC 1998	Reference number : -B.40 in Annex V of Council Directive 67/548/EEC, TG 430, 431 OECD Guidelines
Phototoxicity	Already validated ESAC 1997	B.41 in Annex V of Council Directive, 67/548/EEC ; -TG 432 in OECD Guidelines
Skin irritation	ESAC 2007	Regulatory acceptance pending
Eye irritation for severe irritant	ESAC 2007	Regulatory process started
Eye irritation (mild irritants)	ESAC 2009-2010 (to be expected)	
Skin absorption/penetration	ESAC 2008-2009 (ongoing validation of skin models)	OECD TG 428
Photogenotoxicity	ESAC likely in 2010	
Acute toxicity, A-Cute-tox	ESAC likely in 2012	
Skin sensitization	ESAC likely in 2012	
Genotoxicity and mutagenicity (micronucleus and COMET test)	ESAC likely in 2009-2011	

表10-2 ECVAMにおける代替試験法の状況 (2)

Toxicological endpoints for which methods are not ready
before 2009 and 2013

Toxicological end points	Estimated ESAC statement	Acceptance in the Guidelines
Subacute and subchronic toxicity, repeated-dose toxicity	No tests developed yet Not before 2013	
Toxicokinetics and metabolism	Not before 2012	
Carcinogenicity	ESAC, 2009 Needs more efforts, as partial replacement only	
Reproductive and developmental toxicity -embryotoxicity -strategies from ReProTect project	ESAC 2002, does not fully cover the animal test Not before 2013, probability for full replacement very little (about 10% only)	

4 日本における代替試験法

日本には、最近までECVAMやICCVAMのような安全性試験評価のための常設組織は存在せず、事例ごとに研究班が組織され、検討されてきた。このため、わが国独自の試験法のバリデーションや評価は遅れがちであった。また、バリデーションに関するノウハウも継承・蓄積されて来なかった。そこで、*in vitro* 新規試験法の開発研究と、それによって得られた専門的知見を基礎に新規代替法のバリデーションと評価、及び国際対応を行う日本における代替法研究の中心となる機関としてJaCVAM (Japanese Center for Validation of Alternative Methods) が、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 薬理部内に新規試験法評価室として設立された(2005年11月)。欧米の機関と比較すると、きわめて小規模であるが、まず第一歩を踏み出したと考えている。

JaCVAMの活動の目的は、3Rの促進のための代替法の開発と評価、試験法の公定化、日本発の新規試験法のプロモーション、国際協力である。広範囲にわた