

Fig.1 SIRC test Validation Management Team (VMT)

図1. SIRCアッセイバリデーション実行委員会

表3. 各施設における試験結果

No.	物質名	Lab. 1			Lab. 2			Lab. 3			
		1	2	3	1	2	3	1	2	3	4
2	diethyl phthalate	94.5	90.7	92.5	94.4	77.8	92.5	79.6	99.2	91.9	
4	allyl phenoxy-acetate	83.1	79.9	67.3	91.0	84.3	79.2	83.9	79.8	63.4	
5	isopropanol	77.3	79.2	80.4	93.7	86.2	82.1	78.1	102.0	76.5	
13	1-bromohexane	17.5	17.1	18.0	11.7	11.5	7.6	13.3	8.8	13.0	
15	di-n-propyl disulphide	96.5	84.5	86.4	36.9	78.6	70.7	31.8	11.2	20.3	16.7
20	tetrachloroethylene	5.6	5.0	5.3	8.7	7.1	7.0	5.1	4.1	5.9	

SD $\geq 18\%$ で許容範囲外となった試験

皮膚非刺激性

皮膚刺激性

表 4. 各施設の皮膚刺激性判定結果

物質名	Lab. 1		Lab. 2		Lab. 3	
	平均	判定	平均	判定	平均	判定
diethyl phthalate	92.5	NI	88.3	NI	90.2	NI
allyl phenoxy-acetate	76.8	NI	84.8	NI	75.7	NI
isopropanol	79.0	NI	87.3	NI	85.5	NI
1-bromohexane	17.5	I	10.3	I	11.7	I
di-n-propyl disulphide	89.1	NI	62.1	NI	16.1	I
tetrachloroethylene	5.3	I	7.6	I	5.0	I

NI: 皮膚非刺激性

I: 皮膚刺激性

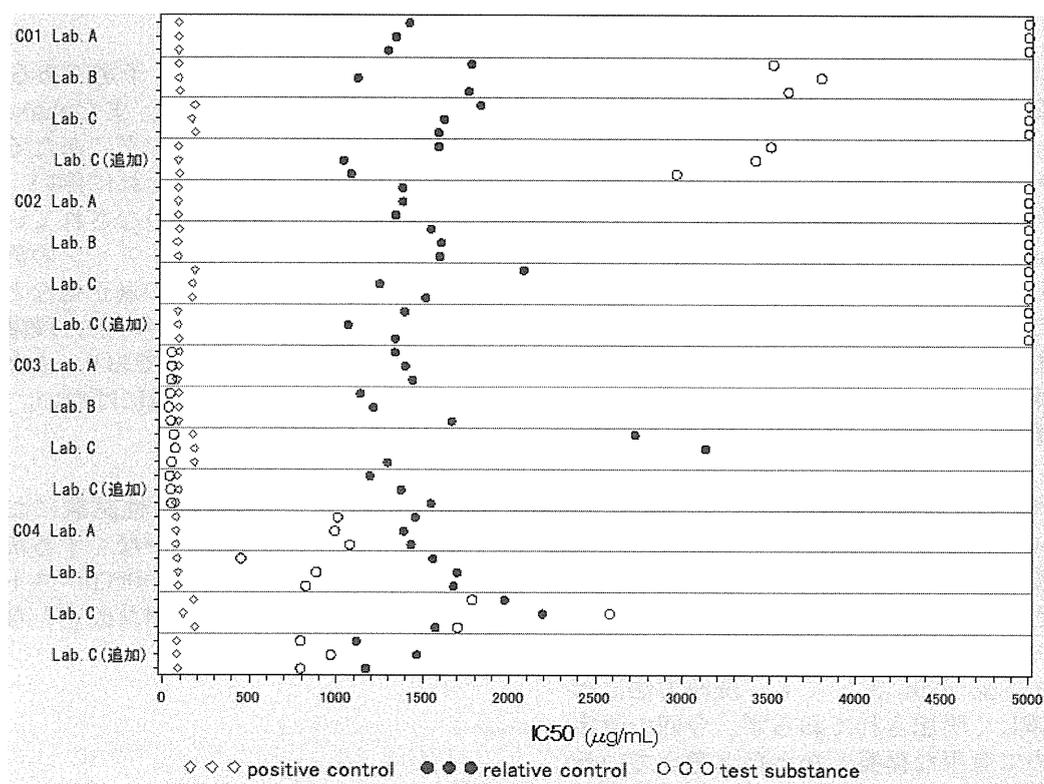


図 2. SIRC アッセイの各施設におけるバラツキ

表5. SIRC アッセイの被験物質と判定結果

		1	2	3	
物質名	Lab.	結果	結果	結果	判定
Ethyl-2-methyl acetoacetate (C01)	A	N	N	N	陰性
	B	N	N	N	陰性
	C	N	N	N	陰性
Safflower (Carthamus tinctorius) oil (C02)	A	N	N	N	陰性
	B	N	N	N	陰性
	C	N	N	N	陰性
3-Chloropropionitrie (C03)	A	P	P	P	陽性
	B	P	P	P	陽性
	C	P	P	P	陽性
Sodium dehydroacetate (C04)	A	P	P	P	陽性
	B	P	P	P	陽性
	C	P	N	N	陰性

N: negative、P: positive

C-2) SIRC アッセイのバリデーション

図2に示すように、Lab Cの習熟度がまだ低く、参照物質であるtriethanolamine、C03、C04の結果が他の施設と比較してばらついていた。結果として、表5に示すように、C04 Sodium dehydroacetateの結果が他の参加施設の結果と食い違った。

そこで、LabCには実験を繰り返すように依頼した。その結果、図2のLab C(追加)の結果が示すように、他の参加施設と同様な結果になった。

D. 考察

LabCyteを用いた皮膚刺激性試験において、被験物質の除去の際、PBSを大量に用いることを統一したSOPに変更したことが効果的であったと考える。現在のテストガイドラインNo. 439においても、洗浄方法について詳しく明記されておらず、今回の改定は極めて有用な提案となったと考えている。添付資料1に示すようにOECDに提出した報告書にも本件を記載しており、テストガイドラインNo. 439にLabCyteが収載される改定にも有利に働くと期待している。今後論

文として本件を発表していく予定である。

SIRCアッセイについては、まだphase Iという参加施設のトレーニングにあたる段階が終了した時点であり、それに伴い、プロトコルの微細な変更提案がなされている段階である（トリエタノールアミンの許容範囲、1濃度当たりのwell数の適正化など）。

適正なプロトコルの改良ができた段階でphase II研究を開始する予定であり、まだ本試験法の良し悪しを語る段階にはない。

E. 結論

LabCyteを用いた皮膚刺激性試験において、ばらつきによる逸脱を少なくする洗浄法の改良を行った。LabCyteのOECDテストガイドライン収載に向け、有用な改定となった。

F. 参考文献

- 1) Katoh, M., Hamajima, F., Ogasawara, T. and Hata, K. I. (2009) Assessment of the Human Epidermal Model LabCyte EPI-MODEL for In Vitro Skin Irritation Testing According to the ECVAM-Validated Protocol, *Journal of Toxicological Science*, 34(3) 327-334.
- 2) Kojima, H., Ando, Y., Idehara, K., Katoh, M., Kosaka, T., Miyaoka, E., Shinoda, S., Suzuki, T., Yamaguchi, Y., Yoshimura, I., Yuasa, A., Watanabe, Y. and Omori, T. : Validation Study of the *In Vitro* Skin Irritation Test with the LabCyte EPI-MODEL24, *Altern Lab Anim.*, 40, 1-18 (2012)
- 3) ECVAM (2012) Available at: <http://ecvam.jrc.cec.eu.int/index.htm>
- 4) OECD Series on Testing and Assessment: Testing for Human Health No 155: Peer Review Report of the Validation of The Skin Irritation Test Using Labcyte Epi-Model 24 (2012) Available at: http://www.oecd.org/document/44/0,3746,en_2649_34377_47787756_1_1_1_1,00.html
- 5) OECD Series on Testing and Assessment: Testing for Human Health No 159: Validation Report for the Skin Irritation Test Method Using LabCyte EPI-MODEL24 (2012) Available at: http://www.oecd.org/document/44/0,3746,en_2649_34377_47787756_1_1_1_1,00.html
- 6) JaCVAM (2012) Available at: <http://jacvam.jp/>
- 7) Itagaki H, Hagino S, Kato S, Kobayashi T, Umeda M.: An in vitro alternative to the Draize eye-irritation test: Evaluation of the crystal violet staining method. *Toxicol In Vitro*. 5(2), 139-43(1991)
- 8) 大野泰雄ら (2005) *Altern. Animal Test. Experiment*, 10(2), 54-157.
- 9) Hagino S, Okazaki Y, Kitagaki M, Itagaki H. : Further verification of an in vitro tier system for the identification of cosmetic ingredients that are not ocular irritants., *Altern Lab Anim*. 38(2), 139-5.(2010)
- 10) OECD (2010) OECD Guidelines for the Testing of Chemicals No. 439: In vitro Skin Irritation assay. Paris, France: Organisation for Economic Cooperation and Development. [http://www.oecd.org/document/22/0,2340,en_2649_34377_1916054_1_1_1_1,00.html].

G. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 小島肇夫：動物実験代替法における国際協調、日薬理誌、138、103-107 (2011)
- 2) 小島肇夫：経皮吸収と安全性、次世代経皮吸収型製剤の開発と応用、pp.157-164、シーエムシー出版、東京 (2011)
- 3) 小島肇夫：監修および序章、動物実験代替法と動物実験の住み分け、pp.3-9、第1章第2節 日本における各種承認申請に必要な安全性試験と代替法の受理の現状、pp.19-23、第1章第3節 REACH.GHSなどの各種規制との違い、pp.24-29、第2章皮膚腐食性試験の実験手法、pp.33-43、第4章 眼刺激性試験代替法の実験手法、pp.71-87、最新 動物実験代替法の技法ノウハウ、技術情報協会、東京 (2011)
- 4) 小島肇夫：第8回国際動物実験代替法会議参加記、COSME TECH JAPAN,1 (5) : 29-33 (2011)
- 5) 小島肇夫：技術講座 安全性評価試験 (1)、COSME TECH JAPAN,1 (6) : 10-13 (2011)
- 6) Pfuhrer S, Fellows M, van Benthem J, Corvi R, Curren R, Dearfield K, Fowler P, Frötschl R, Elhajouji A, Le Hégarat L, Kasamatsu T, Kojima H, Ouédraogo G, Scott A, Speit G: In vitro genotoxicity test approaches with better predictivity: Summary of an IWGT workshop, Mutat. Res., 723(2):101-7 (2011)
- 7) 小島肇夫：技術講座 安全性評価試験 (2)、COSME TECH JAPAN,1 (7) : 18-22 (2011)
- 8) Kano, S., Todo, H., Furui, K., Sugie, K., Tokudome, Y., Hashimoto, F., Kojima, H., Sugibayashi, K.: Comparison of Several Reconstructed Cultured Human Skin Models by Microscopic Observation: Their Usefulness as an Alternative Membrane for Skin in Drug Permeation Experiments, Altern. Animal Test. Experiment, 16(2): 51-58 (2011)
- 9) 小島肇夫：技術講座 安全性評価試験 (3)、COSME TECH JAPAN, 2(1) : 73-77(2012)
- 10) 小島肇夫：技術講座 安全性評価試験 (4)、COSME TECH JAPAN, 2(2) : 65-69(2012)
- 11) 小島肇夫：技術講座 安全性評価試験 (5)、COSME TECH JAPAN, 2(3) : 44-49 (2012)
- 12) Kojima, H., Ando, Y., Idehara, K., Katoh, M., Kosaka, T., Miyaoka, E., Shinoda, S., Suzuki, T., Yamaguchi, Y., Yoshimura, I., Yuasa, A.,

Watanabe, Y. and Omori, T. : Validation Study of the *In Vitro* Skin Irritation Test with the LabCyte EPI-MODEL24, Altern Lab Anim., 40, 33-50 (2012)

2. 学会発表

- 1) Kojima, H.: Update of skin equivalent and its regulatory use, BIT's 4th Annual World Congress of Industrial Biotechnology-2011, Dalin, China (2011.4)
- 2) 小島 肇：安全性評価のための *in vitro* 試験法を確立するために何をなすべきか、日本組織培養学会第84回大会、成育医療センター (2011.5)
- 3) 山本直樹、平野耕治、小島 肇、住友万里子、山下宏美、中村政志、原 和宏、谷川篤宏、谷口考喜、堀口正之：ヒト角膜組織より分離した角膜上皮細胞への不死化遺伝子の導入と評価、日本組織培養学会第84回大会、成育医療センター (2011.5)
- 4) 小島 肇：医薬品・医療機器の許認可に求められる安全性試験、第7回大阪大学医工連携シンポジウム 第2回 MEI産学官連携部門勉強会講演会 大阪大学銀杏会館 (2011.6)
- 5) Yamamoto, N., Hirano, K., Sumitomo, M., Yamashita, H., Nakamura, M., Hara, K., Tanikawa, A., Horiguchi, M., Taniguchi, K. and Kojima, H. : Generation and Analysis of a New Immortalized Human Corneal Epithelium Cell Line, 2011 In Vitro Biology Meeting, Raleigh, North Carolina, USA(2011.6)
- 6) Kojima, H.: Current and future of correlation with Japan and Korea on alternative to animal experiments, 8th Congress of Korean Society for Alternative to Animal Experiments, Korea (2011.7)
- 7) 小島 肇：代替法から *in vitro* toxicology への発想転換、第38回日本トキシコロジー学会学術年会、パシフィコ横浜 (2011.7)
- 8) 小島 肇：動物実験代替法の申請資料への活用、皮膚基礎研究クラスターフォーラム 第6回教育セミナー、タワーホール船堀 (2011.7)
- 9) 小島 肇：欧米、日本における代替法の現状と化粧品の安全性評価における代替法、千葉科学大学コスメティックサイエンスシンポジウム(第4回)、化学会館・Fホール (2011.7)
- 10) Kojima, H. : Section II-11 The International Cooperation on Alternative Test Methods (ICATM), JaCVAM, 8th World Congress on

- Alternatives and Animal Use in the Life Sciences, Montreal, Canada (2011.8)
- 11) Uno, Y., Kojima, H., Hayashi, M.: In vivo Comet assay: update on the ongoing international validation study coordinated by JaCVAM, 8th World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences, Montreal, Canada (2011.8)
 - 12) Kojima, H., Yamakage, K., Oba, S., Tsuge, H., Aoki, M.: Preliminary study of the revision of Japanese Pharmacopoeia test for rubber closure for aqueous infusions, 8th World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences, Montreal, Canada (2011.8)
 - 13) Ono, A., Takeyoshi, M., Bremer, S., Jacobs, M., Laws, S., Sozu, T. and Kojima, H.: Results of the validation study of the stably-transfected estrogen receptor alpha transcriptional activation antagonist assay using the HeLa9903 cell line, 8th World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences, Montreal, Canada (2011.8)
 - 14) Hayashi, K., Hayashi, T., Sakaguchi, M., Watanabe, S. and Kojima, H.: Inter-laboratory phase II validation study of in vitro eye irritation test; Short Time Exposure (STE) test, 8th World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences, Montreal, Canada (2011.8)
 - 15) Nakamura, M., Suzuki, T., Shinoda, S., Kato, M. and Kojima, H.: Additional validation of alternative skin irritation test method using LabCyte EPI-MODEL24 of cultured skin, 8th World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences, Montreal, Canada (2011.8)
 - 16) McFarland, R., Kulpa-Eddy, J., Isbrucker, R., Halder, M., Kojima, H., Johnson, N., Jones, B., Allen, D., Casey, W. and Stokes, W.: International workshop on alternative methods to reduce, refine, and replace the use of animals in human vaccine potency and safety testing, 8th World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences, Montreal, Canada (2011.8)
 - 17) Kulpa-Eddy, J., McFarland, R., Isbrucker, R., Halder, M., Kojima, H., Johnson, N., Jones, B., Allen, D., Casey, W. and Stokes, W.: International workshop on alternative methods to reduce, refine, and replace the use of animals in veterinary vaccine potency and safety testing, 8th World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences, Montreal, Canada (2011.8)
 - 18) Stephens, M., Kojima, H., Patlewicz-Tier, G., Spielmann H. and Telley, L.: AltTox.org: communication platform for 21st century toxicology, 8th World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences, Montreal, Canada (2011.8)
 - 19) Kojima, H.: Necessity of validation study of new or updated test methods for hazard assessment, Workshop on Validation of 3T3 Neutral Red Uptake Phototoxic Test, Guangzhou, China (2011.11)
 - 20) Kojima, H.: JaCVAM update, シンポジウム動物実験代替法センターの国際協調、日本動物実験代替法学会 第24回大会、仙台 (2011.11)
 - 21) 小島肇：厚生労働省の新規対応、シンポジウム日本における代替法研究の新しい胎動、日本動物実験代替法学会 第24回大会、仙台 (2011.11)
 - 22) Kojima, H.: JaCVAM update、日本動物実験代替法学会 第24回大会、仙台 (2011.11)
 - 23) 丸山 裕子、湯浅 敦子、日置孝徳、笠原 利彦、小島肇：LLNA BrdU-ELISA におけるリンパ節細胞懸濁液調製方法の最適化に関する検討、日本動物実験代替法学会 第24回大会、仙台 (2011.11)
 - 24) 篠田伸介、萩原沙織、山口能宏、中村 牧、笠原利彦、芝井亜弥、加藤雅一、小島 肇：培養表皮モデル LabCyte EPI-MODEL24 皮膚刺激性試験法の追加共同研究、日本動物実験代替法学会 第24回大会、仙台 (2011.11)
 - 25) 内野 正、竹澤俊明、山下 邦彦、小島肇、五十嵐良明、西村哲治：ビトリゲルチャンバーを用いた皮膚感作性試験代替法モデルの基礎的検討、日本動物実験代替法学会 第24回大会、仙台 (2011.11)
 - 26) 山口宏之、竹澤俊明、小島 肇：コラーゲンビトリゲル膜チャンバー内に構築したヒト角膜上皮モデルの有用性：化学物質暴露後の経上皮電気抵抗値の経時変化を指標として眼刺激性を外挿する新しいアプローチ、日本動物実験代替法学会 第24回大会、仙台 (2011.11)
 - 27) 加藤 義直、山本 直樹、山下 宏美、佐藤 淳、水谷 宏、中田 悟、小島 肇：新規不死化ヒト角膜上皮細胞株 (iHCE-NY) を用いた眼刺激性試験代替法への取り組み、日本動物実験代替法学会 第24回大会、仙台 (2011.11)
 - 28) 濱田修一、高島理恵、嶋田圭祐、財前和代、川上哲、田中仁、松本浩孝、中井智博、鈴木洋、松村奨士、真田尚和、井上健司、武藤重治、萩尾宗一郎、林亜耶、高柳智美、

- 萩原庸介、前田晃央、成見香瑞範、高沢博修、小川いづみ、大山ワカ子、中嶋圓、森田健、小島肇、林真、本間正充：反復投与肝臓小核試験法の有用性の検討（MMS 共同研究）、日本環境変異原学会第40回大会、東京（2011.11）
- 29) 宇野芳文、小島肇、林真：インビボコメントアッセイ：JaCVAM 国際バリデーション試験の進捗状況報告（第3報）、日本環境変異原学会第40回大会、東京（2011.11）
- 30) 中村 昌文、武吉 正博、小野 敦、小島肇：国際的バリデーションの行われた三種類のエストロゲン様活性測定法の比較検証、環境ホルモン学会、東京(2011.12)
- 31) 小島 肇：動物実験代替法の国際的動向と JaCVAM 活動について、日本輸入化粧品協会 技術部会、東京（2011.12）
- 32) 小島 肇：毒性発現機序からみたリスク評価の現実 「毒性試験の代替に病理が果たす役割」、第28回日本毒性病理学会総会、東京（2012.2）
- 33) 小島 肇：生物学的製剤基準とワクチンの品質確保にどこまで動物実験は有用か、国際化時代の生物学的製剤基準とワクチンの品質確保のありかた、東京（2012.2）

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

I. 添付文書

資料1) JaCVAM Report: Me-too Validation Study of *in vitro* Skin Irritation Test using LabCyte EPI-MODEL24 (LabCyte EPI-MODEL24 SIT)

資料2) 眼刺激性試験法 SIRCアッセイのバリデーション (Phase I)

厚生労働科学研究費補助金(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)
国際協調を重視した化粧品・医薬部外品における安全性試験法の再評価に関する研究
分担研究報告書

ヒトパッチテストの再検討と使用試験

研究分担者 松永佳世子 藤田保健衛生大学 医学部 皮膚科学 教授

研究要旨

携帯メールによる副作用等情報収集システムを用いた臨床試験を行い、その有用性・実用性を検討した。ハイドロキノン4%含有する美容液を用いた *in vitro* 共焦点レーザー顕微鏡を用いたR1110の色素沈着症に対する効果の検討を行うにあたり、携帯メールで毎日美容液および紫外線防御製品の使用状況、皮膚の状態などをチェックした。毎日日誌メールが送信され試験品使用のコンプライアンスを高める働きがあったと考えられる。試験依頼者が個人情報にアクセスせずに、試験品の使用状況や安全に使用されているのかを認知することができるため、医師と患者、更に依頼者とのコミュニケーションがスムーズにできると考えられた。モニタリングの規模(数十名~数百名)に応じて、運用にかかる費用が変動するため、試験期間や試験規模を考慮に入れて本システムを採用することが肝要と考えられる。携帯メールによる副作用情報収集システムを用いた臨床試験は有用かつ実用性があると結論した。

協力研究者

飯島正文 昭和大学医学部皮膚科学 教授
川島 眞 東京女子医科大学医学部皮膚科学
教授
杉浦伸一 名古屋大学医学系研究科 医療システム
管理学寄附講座 准教授
秋田浩孝 藤田保健衛生大学医学部皮膚科学
准教授
古野哲生 ロート製薬株式会社研究開発本部
西巻賢一 ロート製薬株式会社研究開発本

た製剤)

【投与期間と方法】

12週間、1日2回、朝・夕 疾患部位のみに塗布、朝使用時には日焼け止め製品を併用

【対象・症例数】

対象： 日光黒子または肝斑を顔面に有する者
(女性)

症例数： 10例(肝斑6例、日光黒子4例)

【被験者】

被験者募集会社パネルより募集。研究担当医師による適格性を診断後、組入れ。

【実施施設】

藤田保健衛生大学病院、皮膚科外来

【研究責任者】

松永佳世子教授

【分担研究者】

秋田浩孝准教授

【実施期間】

疫学・臨床研究倫理審査委員会承認：2011年3月17日、臨床試験登録：2011年4月13日
使用期間：2011年4月13日~2011年7月20日のうち12週間

評価は0、4、8、12週の4回(肝斑2グループ、日光黒子1グループ)、14時~17時頃実施

【評価項目】

・共焦点レーザー顕微鏡による撮影

A. 研究目的

平成23年度は携帯メールによる副作用等情報収集システムを行い臨床試験を行い、その有用性・実用性を検討した。

B. 研究方法

【試験名】

In vivo 共焦点レーザー顕微鏡を用いた R1110の色素沈着症に対する効果の検討

【試験デザイン】

肝斑：単盲検(被験者盲検) 基剤対照左右比較試験

日光黒子：オープン試験(対照設定なし)

【投与製剤】

R1110(ハイドロキノン4%含有する美容液)
プラセボ(R1110からハイドロキノンを除い

- ・ダーモスコピーによる皮膚診断
- ・スキントーンカラースケールによる判定
- ・皮膚所見（安全性評価）
- ・メグザメーター、色差計による測定
- ・VISIAによる評価

【患者管理】

患者様 Web 日誌

<https://pms.quickletter.net/ql/rohto/login.asp> HPにて管理

【日誌の質問内容】

- Q1 朝、試験品を使用しましたか？
はい
いいえ 理由のコメントを記入してもらおう。（文字制限付与）
- Q2 朝、日焼け止めを使用しましたか？
はい
いいえ 理由のコメントを記入してもらおう。（文字制限付与）
- Q3 夜、試験品を使用しましたか？
はい
いいえ 理由のコメントを記入してもらおう。（文字制限付与）
- Q4 今日一日紫外線を浴びましたか？
はい どのくらい浴びましたか？（何時間か記入してもらおう。）
いいえ
- Q5 試験品を塗布している部位に肌トラブルがありますか？ はい/いいえ
- Q6 肌にトラブルがあるのは、左右どちらですか？ 右/左/両方
- Q7 かゆみがありますか？ はい/いいえ
症状の程度は？
① 時にむずむずするが、かく程ではない
② 時に手がゆき、軽くかく
③ かなりかゆくて、人前でもかく
④ いてもたってもいられないかゆみ
- Q8 刺激感（ひりひり・チクチク）がありますか？ はい/いいえ
症状の程度は？
① 時々、少しひりひり・チクチクする
② 少しのひりひり・チクチクがつづく
③ ひりひり・チクチクがつづくが、我慢できる
④ 我慢できないひりひり・チクチクがつづく
- Q9 赤みがありますか？ はい/いいえ

症状の程度は？

- ① 僅かに赤みがある
② やや赤みがある

- ③ 赤みがある
④ 強い赤みがある

Q10 皮膚にブツブツがありますか？ はい/いいえ

症状の程度は？

- ① ざらざらしている
② 少しのブツブツがある
③ ブツブツがたくさんある

※Q7～Q10については、次の回答条件に合致した場合に、研究責任者及び分担研究者にリマインドメールを送付するシステムを構築し、運用した。

①はリマインドメールなし。（待機）

②は2日間（2回）続いたら、リマインドメール送信。

③④は直後にリマインドメール送信。

C. 研究結果

【集計結果】

- ・期間及び人数：2011年6月22日～2011年7月20日、携帯6名・PC4名で運用
- ・回答率：91.5% (194/212)
- ・試験品使用(朝)：90.6% (192/212)
- ・日焼け止め使用：86.8% (184/212)
- ・試験品(夜)：89.6% (190/212)
- ・紫外線暴露の有無：44.3% (94/212)
- ・肌トラブル(自覚)の有無：5.2% (11/212)
かゆみ：0件
刺激感(ひりひり・チクチク)：0件
赤み：11件
皮膚にブツブツある：4件
- ・上記の赤み及び皮膚にブツブツがあると回答(延べ15件)した患者は同一の症例(No. 1)であり、プラセボ塗布部(左)での症状であり、8週目及び12週目の医師による問診では異常がなかった。この症例以外に、かゆみや刺激感を伴い、赤みや皮疹のある症例はなかった。リマインドメールの送付されるレベルの有害事象はR1110塗布により起きなかった。
- ・日誌回答忘れについては、No. 2：2回、No. 6：1回、No. 9：2回、No. 10：7回の延べ12回(5.7%)であり、特定の症例で日誌忘れが生じた。

表1 日誌による患者情報のまとめ

症例数	回答数	朝、試験品を使用したか? はい	朝、日焼け止めを使用したか? はい	夜、試験品を使用したか? はい	今日一日紫外線を浴びましたか? はい	試験品を塗布している部位に肌トラブルがありましたか? はい	肌トラブルがあるのは、左右どちらですか?	かゆみがありますか?	刺激感(ひりひり、チクチク)がありますか?	赤みがありますか?	皮膚にブツブツがありますか?
20110622	10	9	9	9	4	1	左	ない	ない	赤みがある	ざらざらしている
20110623	10	9	9	9	5	1	左	ない	ない	赤みがある	ざらざらしている
20110624	10	9	9	9	4	1	左	ない	ない	赤みがある	ざらざらしている
20110625	10	10	10	8	10	4	0				
20110626	10	9	8	8	9	3	0				
20110627	10	10	10	10	10	5	0				
20110628	10	10	10	9	10	5	1	両方	ない	赤みがある	ない
20110629	10	9	9	9	9	6	1	両方	ない	赤みがある	ない
20110630	10	10	10	10	10	5	1	両方	ない	赤みがある	ない
20110701	10	10	10	10	10	5	1	両方	ない	赤みがある	ない
20110702	10	10	9	10	10	5	1	両方	ない	赤みがある	ない
20110703	10	9	9	8	9	2	1	両方	ない	赤みがある	ない
20110704	10	10	10	10	10	4	1	両方	ない	赤みがある	ない
20110705	10	9	9	7	9	4	1	両方	ない	赤みがある	ざらざらしている
20110706	10⇒7	6	6	6	6	3	0				
20110707	7	6	6	4	6	0	0				
20110708	7⇒4	7	7	7	4	5	0				
20110709	4	3	3	3	3	2	0				
20110710	4	3	3	3	3	2	0				
20110711	4	4	4	4	4	2	0				
20110712	4	4	4	4	4	3	0				
20110713	4	4	4	4	4	3	0				
20110714	4	4	4	4	4	3	0				
20110715	4	3	3	3	3	2	0				
20110716	4	4	4	4	4	3	0				
20110717	4	3	3	3	3	2	0				
20110718	4	4	4	4	4	1	0				
20110719	4	4	4	3	4	1	0				
20110720	4⇒0	2	2	2	1	1	0				

D. 考察

携帯電話を用いた副作用情報収集システムを用いた臨床試験の有用性・実用性検討【運用における気付き】

- ・毎日日誌メールが送信されるため試験品使用のコンプライアンスを高める働きがあったと考えられる。
- ・携帯通信費が定額であるかどうか、携帯操作に慣れているかなど、本システム運用の課題と考えられる。
- ・試験依頼者が個人情報にアクセスせずに、試験品の使用状況や安全に使用されているのかを認知することができるため、医師と患者、更に依頼者とのコミュニケーションがスムーズにできると考えられる。
- ・モニタリングの規模(数十名～数百名)に応じて、運用にかかる費用が変動するため、試験期間や試験規模を考慮に入れて本システムを採用することが肝要と考えられる。

E. 結論

携帯メールによる副作用情報収集システムを用いた臨床試験は有用かつ実用性があると結論した。

F. 健康危険情報

G. 研究発表

1) 論文発表

1. 鈴木加余子, 松永佳世子. パッチテストアレルギーに関するアンケート 2010. J Envi-

ron Dermatol Cutan Allergol 2011; 5:91-102.

2. Sasaki R, Suzuki K, Hayashi T, Inasaka H, Matsunaga K. Improvement of cheilitis granulomatosa after dental treatment. Case Rep Dermatol 2011;3:151-154.
3. Suzuki K, Hirokawa K, Yagami A, Matsunaga K. Allergic contact dermatitis from carmine in cosmetic blush. Dermatitis 2011;22:348-349.
4. Suzuki K, Yagami A, Matsunaga K. Allergic contact dermatitis caused by a skin-lightening agent. 5,5'-dipropylbiphenyl-2,2'-diol. Contact Dermatitis 2011;66:46-52.
5. 矢上晶子, 松永佳世子. I型アレルギーによる蕁麻疹 Up to date. アレルギーの臨床 2011;416:17-22.
6. 鈴木加余子, 松永佳世子. ジャパニーズスタンダードアレルギー陽性率の推移. 医学のあゆみ 2012;240:538-544.
7. Furue M, Yamazaki S, Jimbow K, Tsuchida T, Amagai M, Tanaka T, Matsunaga K, Muto M, Morita E, Akiyama M, Soma Y, Terui T, Manabe M. Prevalence of dermatological disorders in Japan: A nationwide, cross-sectional, seasonal, multicenter, hospital-based study. J Dermatol 2011; 38:353-363.
8. 松永佳世子. 加水分解コムギアレルギーの真実. HBR 2012;23:6-9.

2) 総説論文

1. 矢上晶子, 松永佳世子. パッチテストの基本手技と解釈. 医学のあゆみ 2011;240: 321-326.
2. 矢上晶子, 松永佳世子. 既成パッチテストテープはどこまで使えるか. What's new in 皮膚科 2012-2013;46-47.

国外学会

1. Matsunaga K, Yagami A, Sano A, Ota R, Hirokawa K, Nishimura K, Furuta K, Tanaka B, Suzuki K: Valuable 10 years experiences in Japan - setup and prevail the guideline. World Congress of Dermatology. Seoul, South Korea. 2011/5/24-29
2. Matsunaga K, Yagami A, Sano A, Kobayashi T, Morita Y, Ota R, Hirokawa K, Nishimura K, Suzuki K: Outbreak of immediate hypersensitivity to hydrolyzed wheat proteins

in 'Cha-no-shizuku', World Congress of Dermatology. Seoul, South Korea. 2011/5/24-29

3. Matsunaga K, Yagami A, Sano A, Ota R, Hirokawa K, Nishimura K, Furuta K, Tanaka B, Suzuki K: Cosmetic dermatitis in recent years in Japan, The 11th APEODS & The 3rd CODFICTION. Chandigarh, INDIA. 2011/10/14-16
4. Matsunaga K, Yagami A, Sano A, Kobayashi T, Morita Y, Ota R, Hirokawa K, Nishimura K, Suzuki K: Outbreak of immediate hypersensitivity to hydrolyzed wheat proteins in 'Cha-no-shizuku' The 11th APEODS & The 3rd CODFICTION in Chandigarh, INDIA. 2011/10/14-16

国内学会

1. 佐野晶代、矢上晶子、伊佐見真美子、秋田浩孝、松永佳世子: 染毛剤によるアレルギー接触皮膚炎の1例, 第255回日本皮膚科学会東海地方会. 2011/3/13
2. 西村景子、伊佐見真実子、矢上晶子、高橋正幸、三和拓人、森田雄介、小林東、佐野晶代、古田加奈子、美浦麻衣子、鈴木加余子、松永佳世子: 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 2010年のまとめ. 第36回日本化粧品学会. 2011/6/9-10
3. 松永佳世子: 楽しくパッチテストをやってみよう. 札幌市皮膚科医会総会. 2011/7/8
4. 松永佳世子: 「プリックテスト、パッチテストの実際とその適応となる疾患」について. 第5回相模原アレルギーセミナー. 2011/8/6
5. 松永佳世子: 職場で注意が必要な皮膚アレルギーの知識と対策. 平成23年度日本産業衛生学会東海地方会. 2011/11/5
6. 太田理恵、矢上晶子、佐野晶代、小林東、西村景子、廣川景子、鈴木加余子、松永佳世子: 加水分解小麦末含有石鹼使用者に生じた小麦アレルギーの臨床的特徴. LATEX ALLERGY OAS フォーラム 2011 第16回ラテックスアレルギー研究会. 2011/7/31
7. 矢上晶子、佐野晶代、西村景子、小林東、松永佳世子、森田雄介、廣川景子: 加水分解小麦末含有石鹼使用者に生じた小麦アレルギーの臨床的検討. 第37回藤田保健衛生大学アレルギー勉強会. 2011/8/8
8. 松永佳世子: 接触皮膚炎 up-to-date. 浦安皮膚臨床懇話会学術講演会. 2011/10/20
9. 松永佳世子: パッチテスト試薬 2011 共同研

究中間報告. 第41回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会. 2011/7/16-17

10. 西村景子、伊佐見真実子、矢上晶子、高橋正幸、三和拓人、森田雄介、小林東、佐野晶代、古田加奈子、美浦麻衣子、鈴木加余子、松永佳世子: 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 2010年のまとめ. 第41回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会. 2011/7/16-17
11. 太田理恵、矢上晶子、佐野晶代、小林東、西村景子、森田雄介、廣川景子、鈴木加余子、松永佳世子: 加水分解小麦末含有石鹼使用者に生じた小麦アレルギーの臨床的特徴. 第41回日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会. 2011/7/16-17
12. 矢上晶子、佐野晶代、西村景子、森田雄介、松永佳世子: Hevb6(プロヘベイン)により感作された職業性ラテックスアレルギーの1例. 第63回日本皮膚科学会西部支部学術大会. 2011/10/8-9
13. 太田理恵、西村景子、佐野晶代、岩田洋平、矢上晶子、松永佳世子: 納豆(発行大豆)により遅発性アレルギーの一例. 第63回日本皮膚科学会西部支部学術大会. 2011/10/8-9
14. 松永佳世子: 女性であることを10倍楽しむには! ~実際の診療現場において~. 第6回BMW研究会. 2011/12/3
15. 松永佳世子: 最近話題の皮膚アレルギー-茶のしずく石鹼による即時型小麦アレルギー、接触皮膚炎 2010の動向-. 第18回岐阜アレルギー疾患研究会. 2012/1/19
16. 松永佳世子: 思いもよらぬ接触皮膚炎の原因. 第75回日本皮膚科学会東京支部学術大会. 2012/2/28
17. 松永佳世子: 茶のしずく石鹼と小麦アレルギーの問題について. 藤田保健衛生大学アレルギー勉強会. 2012/1/16
18. 松永佳世子: 「化粧品はどこまで安全か? 『茶のしずく石鹼等による小麦アレルギー』はなぜ起きたのか?」. 第3回伊豆湘南皮膚免疫アレルギー懇話会. 2012/3/21
19. 松永佳世子: 「最近話題の皮膚アレルギー」. 第24回北河内女医の会. 2012/3/24

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他
すべてなし

厚生労働科学研究費補助金(医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業)
国際協調を重視した化粧品・医薬部外品における安全性試験法の再評価に関する研究
分担研究報告書

使用試験の情報管理統括に関する研究

研究分担者 杉浦 伸一

名古屋大学大学院医学系研究科医療システム管理学寄附講座 准教授

研究要旨

化粧品・医薬部外品においては、情報収取量が医薬品・医療機器に比較して少なく、そのため副作用情報が発覚しにくい現状がある。我々は、2種類（Google Apps および Office365）の web アプリケーションを用いて医師が化粧品・医薬部外品による副作用情報を発信・共有するシステムを作成し、その特徴をアクセサビリティ、セキュリティおよび保存性の観点から比較した。

アクセサビリティについて双方とも利用可能な形態は同様であり、セキュリティについてはサイト構成の視認性に優れた Office365、操作性についてもサイトの同一領域内に画像を保存できる Office365 が優位であり、副作用の情報収集に特化した使用法においては、現状では Office365 が最適であると考えられた。

A. 研究目的

医薬品・医療機器は、その販売に先立ち、非臨床試験として有効性および安全性の検討、臨床試験として治験が必須であるが、医薬部外品、化粧品については治験の必要性はなく、そのため企業による市販後の調査が安全管理において重要になる。しかし医薬部外品、化粧品に課せられた情報収集範囲は、学会、文献報告等、およびその他からとされており、医薬品や医療機器と比較して、収集可能な情報が少ないのが現状である。このような状況下、2011年に小麦由来成分を含む石鹸の使用者のうち、約1500名にアレルギー反応が確認され、170名以上が重篤な症状を示した。しかし、制度上の問題や販売企業の対応の遅れが重なり、事態が拡大したことが示唆されている。

この事案は医療機関から行政への情報提供により初めて明るみになったが、医師らが情報を発信・共有できるシステムを構築していれば、情報が整理され、素早い対応を取り得た可能性もある。医薬品や医療機器メーカーとは異なり、化粧品・医薬部外品の販売企業が新たにその情報収集に取り組むことは容易ではなく、使用者の健康を鑑みた時、医療機関が自ら情報発信・共有するシステムの有用性は明らかである。

我々は医療に Information and Communication Technology: ICT を組み合わせることで患者と医療機関、医療機関と医療機関の間に双方向で結ぶネットワークを構築し、分散した情報を集約して共同利用するための環境構築に関する研究を行っている。特に医療情報データベースサイト：ホスピタルナビでは、「今診てもらえる診療所」検索により、診療所の医師の携帯電話を利用することで、サイトの利用者が検索をしているまさにその時に開院している診療所を紹介できるシステムを開発した。また愛知県で採用されている周産期緊急搬送システムでは、多機能電話の web 機能を利用して 100 あまりの個人病院と 18 の周産期センターを結ぶことで、患者のたらい回しを抑制し、かつ短時間で受け入れ施設を決定できるシステムを構築した。この周産期緊急搬送システムでは多機能電話の使用を前提に、入力方法を簡便にする仕組みを作成したが、入力端末として PC を使用すれば、副作用情報等の複雑な情報も共有化が可能になると考えた。特に近年のグループウェアの進歩は目覚ましく、安価に利便性の高い情報共有システムを構築することができる。

本研究では、インターネットを用いて化粧品・医薬部外品の副作用情報を医師間で共有す

るためのシステムのあり方とその構築方法について検討した。

B. 研究方法

インターネットを用いて副作用情報を収集するために必要な要素として、セキュリティ、アクセサビリティおよび操作性の観点から評価する必要がある。また、これらの要求事項に適合する具体的なシステムとして①新規プログラムを構築する方法、②既存のサービスを利用する方法および③既存の web アプリケーション上にプログラムを構築する方法がある。①については汎用性が乏しく開発コストが莫大になる。また②については、様々な状況に対応できるサービスが提供されていない。したがって本研究では、クラウドコンピュータ上に提供されている web アプリケーションを用いた副作用情報収集サイトについて検討した。

現在提供されている web アプリケーションは Google 社による Google Apps と Microsoft 社により提供される Office365 が利用可能である。

今回我々は、これらの両システムを用いて、副作用情報入力サイトを構築し、化粧品および医薬部外品の副作用症例の収集方法についてアクセサビリティ、セキュリティおよび保存性の観点から評価した。

C. 研究結果

・アクセサビリティ

両社ともクラウドコンピュータ上で提供されるアプリケーションソフトウェアを用いてシステムを構築した。これらのシステムはインターネットを介して情報交換を行う仕組みであり、携帯電話からデスクトップ PC まで様々な入力端末機器を利用可能である。また、その利用にインターネットを介するため、世界中のどこからでもシステムを利用することが可能である。また、作成したサイトへの侵入は、ID 及びパスワードが必要であり、アクセサビリティに関して両者に差はなかった。

・操作性

Office 365 によるサイトの作成では、手書きの書類のイメージで入力フォームを作成できるため、サイト内のスペースを有効に活用した画面構成を設定することができた。副作用報告など、入力項目が多い場合、視覚的にも利用者に理解されやすかった。

一方、Google Apps によるサイトの作成では、入力項目を並行して配置できないため、入力項

目を縦一列に配置する必要があった。したがって入力項目が多い場合は画面をスクロールして入力を行う必要があった。また、入力情報の修正を行う場合、Google Apps では入力した内容をそのまま修正することはできなかった。そのため入力内容を自分宛にメール送信し、その画面から修正入力する必要があった。一方、Office 365 の場合では、入力した情報は 1 被験者 1 ファイルとしてライブラリに保存されているため、そのライブラリを呼び出すことで入力者自身が容易に修正することが可能であった (図 1)。

日付入力について、Office 365 ではカレンダーのアイコンをクリックすることにより日付を選択できることに対して、Google Apps では使用者自身が数字を入力する必要があった (図 2)。

・自動集計機能 (グラフ化など)

得られた数値データの自動集計・グラフ化を試みた。Office 365 においては目的に応じて抽出した内容をグラフ化することができた (図 3)。Google Apps においても予め規定された集計フォームのみをグラフ化することができ、Google Apps では設定が複雑で利用者が容易に表示グラフを作ることが困難であった。

・セキュリティ (写真のアップロードなど)

Google Apps を利用した場合、見かけ上、作成したサイトで画像のアップロードを行うことはできるが、画像は Google 社のファイル管理サイト:Picasa (<http://picasa.google.com/>) に保存される設定となっている。一方で Office 365 では、サイトの同一領域内に情報が保存されるため、他の者が閲覧することは不可能である。

Google Apps および Office365 のいずれについてもクラウド上の web アプリケーションを用いているため、外部からのウイルス侵入等に対するセキュリティは確保されている。しかし、Google Apps は無料で公開されているサービスが多い反面、システム側の要求事項にしばられるため、Picasa 等の写真のアップローダーを用いる必要があり、操作ミスにより、画像を流出させる危険性が示唆された。

両システムは操作機器に情報を残さない為、機器の盗難によりデータが流出するリスクは少なかった。

・一般サイトとグループサイトの階層化 (ID、Pass など)

Google Apps ではサイトの ID およびパスワードは g-メールアドレスを用いている。一方、Office365 の ID およびパスワードは有料の専用アドレスを用いて、閲覧者にはホットメールといわれるフリーメールアドレスを提供することで利用可能であった。両者の違いは前者が無料であるのに対し、後者は有料のサービスである。

また、Office365 では契約条件によって Office Soft (word、Excel、Powerpoint など) のライセンス利用が可能である。

サイトの階層化については、両者に大きな差はないが、サイトのデザイン性については Google Apps が優れていた。

D. 考察

本研究では、クラウドコンピューティングのサービス形態としてアプリケーションソフトウェアを含んだ Google Apps (Google 社製) と Office 365 (Microsoft 社製) の 2 つのアプリケーションを用い、それぞれの副作用情報入力サイトを作成した。クラウドコンピューティングは、自分でハードウェアを用意することなくインターネットを利用して作業を行う PC の利用形態のことである。使用者については専用のハードウェアが不要なことから、インターネットを利用できる環境であれば入力端末装置を選ばずに作業を行うことができる。また、管理者はサーバーを用意する必要がないため安価に作業環境を提供することができる。本研究ではシステム活用に必要な要素としてセキュリティ、アクセサビリティ、操作性の 3 点を掲げ、上記 Google Apps と Office365 により作成したサイトを比較した。

アクセサビリティに関しては、双方ともクラウドコンピュータ上のソフトウェアを用いることからソフトウェアには依存せず、また利用可能な機器に関しても差異はみられなかった。

操作性に関して、Office365 では手書きの書類をそのまま利用できる点が長所として大きい。Google Apps では入力項目を横に並べることができなかつた。したがって入力項目の多い調査は困難なことが示唆された。また、入力情報の修正について、Google Apps は煩雑で、Office365 に優位性があった。同様に Office365 では、日付の入力もカレンダーをクリックすることで自動入力できるため、入力者の負担を軽減できるものと考えられた。

一般に、副作用情報の収集は、できるだけ多

くの医師が参加・入力することが望ましく、それゆえデータのグラフによる可視化は重要と考える。従って、容易にグラフ表示ができる機能は必要と考えられた。また、皮膚の状態など、文字では判別が困難な情報は、画像による表示が望ましく、これらの点からも Office365 が優位だった。セキュリティに関しては、Google Apps、Office365 とも操作機器内にデータを残さず web 上での閲覧を行うため、従来の機器内へのデータの保存という形式に比較して、機器の盗難あるいは紛失等に対しても安全と考えられた。

以上のことから、副作用情報の収集など、離れた場所で働く医療者がクラウド上のグループウェアを利用するシステムは有用と考えられた。しかし画像データなどの個人情報クラウド上に保存されるため、機器内へのデータ保存とは別のデータ流出に対する配慮が必要と考える。これらの点からは、Google Apps の仕様には慎重になるべきと考えられた。

利用者の登録に関しては、いずれも ID とパスワードの取得はメールアドレスの登録をもって行われていた。この作業は本研究において利用者となる医師が直接行うものではないが、アドレスの登録の煩雑さは、システムの運用面で問題となる。これらの観点からは、Office365 および Google Apps の両者に差は無いと考えられた。

E. 結論

本研究では、Google Apps および Office365 を用いて作成した副作用情報収集サイトを比較した。

セキュリティ、アクセサビリティおよび保存性の観点から、専門医による副作用情報収集サイトの利用に関しては Office365 を用いるべきである。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表 なし

2. 研究発表 なし

H. 知的財産権の出願。登録状況

なし

a.

依頼医師の情報

医療施設名 診療科

医師名 メールアドレス

患者情報

施設での患者登録番号（カルテ番号ではなく連結匿名化した番号） 記号番号

来院日 年齢 性別 選択してください

住所（都道府県） 市あるいは郡

茶のしずく石鹸等によるアレルギー症状を主訴に受診した年月

使用したグローバル19Sを含む石鹸などの商品名

- (茶のしずく石鹸)
- (不詳)
- (その他)

※選択内容は選択後の使用部位の申告内容に（明記必須）を付記

b.

アレルギー情報収集システム このサイト検索

ホーム
症例情報(記入)
お知らせ

お問い合わせ

症例情報フォーム

このフォームを送信すると、ユーザー名(kanni@k-lab.tv)が記されます。kanni でない場合は ログアウトしてください。
*必須

依頼医師の情報
医療施設名

診療科

医師名

メールアドレス

図 1. 入力サイトの画面構成
a:Office 365, b :Google Apps

来院日						
住所(都道府県)	選	2012年3月				
茶のしずく石鹸等による		日	月	火	水	木
					1	2
					3	4
使用したグローバル19		4	5	6	7	8
		9	10	11	12	13
		14	15	16	17	18
		19	20	21	22	23
		24	25	26	27	28
		29	30	31		
症状	洗顔中もし	今日は2012年3月15日です				
	小麦製品					

* 来院日(年月日)	<input type="text"/>
* 年齢	<input type="text"/>
* 性別	<input type="text"/>

図 2. 日付入力の違い (a:Office 365, b:Google Apps)

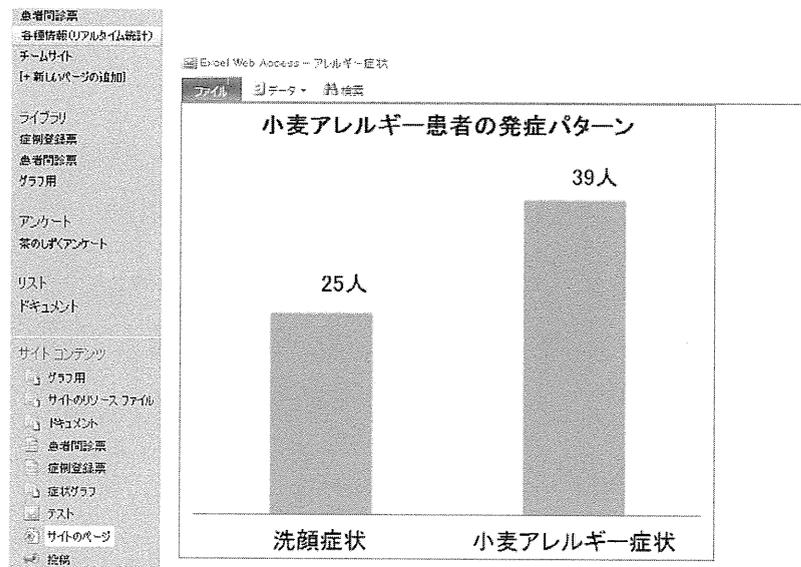


図 3. Office 365 による集計データのグラフ化

厚生労働科学研究費補助金（医薬品・医療機器等レギュラトリーサイエンス総合研究事業）
国際協調を重視した化粧品・医薬部外品における安全性試験法の再評価に関する研究

分担研究報告書

代替法についての国際情勢の調査

分担研究者 杉山 真理子
日本化粧品工業連合会、技術委員会動物実験代替専門委員会委員長

研究要旨

本邦における動物実験代替法の開発と評価を推進するためには、関連する国際情勢の調査は必要不可欠な研究活動である。特に EU では、2003 年 3 月に公布され 2009 年 3 月 11 日に発効した「化粧品指令第 7 次改正」と 2007 年 6 月 1 日に発効した「化学物質の登録と規制 (REACH)」のため、ECVAM を中心に動物実験代替法の開発と評価は非常に進展している。一方、米国においては ICCVAM が中心となって代替法の評価が進行している。近年、代替法の開発と評価はグローバル化が加速し、国際的な協力体制が整いつつあり、本邦における対応案策定にはこれら国際情勢の調査・把握は重要である。

本年度の特筆すべき動きは、動物実験を行った原料を配合する化粧品の販売が EU で 2013 年に禁止される予定の 3 試験項目 (反復投与毒性、生殖毒性、薬物動態) について、禁止時期を延期するか否かの検討が行われたことである。しかしながら、当初予定されていた 2011 年内には、最終結論は公表されなかった。

国際協力については、2011 年 3 月に韓国が代替試験法協力国際会議 (ICATM) へ加わったことが挙げられる。代替法の検証研究、評価、ガイドラインの開発等について更なる国際協力が期待される。

代替法開発については、反復投与毒性の開発の促進をめざした巨大プロジェクト Safety Evaluation Ultimately Replacing Animal Testing (SEURAT)-1 が開始されたことが挙げられる。開発の潮流は、2013 年に禁止される難易度の高い試験の代替へと移ってきている。

国内においては、2011 年 2 月 4 日に厚労省から事務連絡「医薬部外品の承認申請資料作成時における動物実験代替法の利用と JaVCAM の活用について」が通知されたことを受けて、JaVCAM において行政試験法としての代替法受け入れに配慮した評価法提案のために「ガイダンス検討会」が組織されたことが挙げられる。光毒性試験代替法 (3T3 NRU PT) や感作性試験代替法 (LLNA) についてガイダンス案が作成された。また、in vitro を補完する位置づけとして in silico による化粧品の安全性評価を議論する目的で「in silico ワーキンググループ」が日本化粧品工業連合会の動物実験代替専門委員会内に設立された。

このように国内外の代替法に関する情勢は急速に変化しており、関連情報を継続的に収集分析し、その結果を公表していくことは、本邦における動物実験代替法の開発と評価を推進するうえで必要と考えられる。

研究協力者

岡本裕子、青木摩利男、荒木大作
井上 周、今井教安、加藤義直、
金森健之、川上幸治、京谷大毅、
坂口育代、坂口眞由美、實川節子、
瀬戸洋一、萩野滋延、宮澤正明、
山本 裕、加賀光明
以上、日本化粧品工業連合会、技
術委員会動物実験代替専門委員会

A. 研究目的

本邦における動物実験代替法の開発と評価を推進するためには、関連する国際情勢の調査は必要不可欠な研究活動である。特に EU では、2003 年 3 月 11 日に公布され、2009 年 3 月 11 日に発効した「化粧品指令第 7 次改正」(2003/15/EC) と 2007 年 6 月 1 日に発効した「化学物質の登録と規制」(Registration Evaluation and

Authorization of Chemicals; REACH) のため、欧州代替法検証センター (European Centre for the Validation of Alternative Methods; ECVAM) を中心に動物実験代替法開発と評価は非常に進展している。

一方、米国においては代替法検証省庁間連絡委員会 (Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods; ICCVAM) が中心となって代替法の評価が進行している。最近は、代替法試験協力国際会議 (International Cooperation on Alternative Test Methods; ICATM) の設立に見られるように国際的なバリデーションや専門家による第三者評価の体制が整いつつあり、今後、代替法の開発と評価はグローバル化が加速するものと考えられ、本邦における対応案策定にはこれら国際情勢の調査・把握は重要である。

本研究においては、以前よりこれらの欧米の動向をより密接な情報収集活動により把握し、適切な対応を講じることで、動物実験代替法の開発と利用を促進することを目標に調査研究を推進してきた。

B. 研究方法

B-1 情報収集

情報収集は、過去の本研究による経験から、いくつかのホームページ (SCCS、OECD、ECVAM、ICCVAM、EPAA など) を定期的に検索すると共に EU については同地域の化粧品工業会である欧州化粧品工業会 (COLIPA)、米国については米国化粧品工業会 (Personal Care Products Council; PCPC、旧称 CTFA: Cosmetic, Toiletry and Fragrance Association) との連繋を通じて実施した。この他、代替法の承認状況等については、専門学会の会誌やニュースレターも参考とした。(倫理面への配慮)

本研究は動物実験代替法に関する情報を収集することにより、実験動物の福祉向上を目指すものであり、ヒトや動物の権利や福祉に抵触するところはない。

C. 研究結果及び考察

C-1 EU における動物実験禁止と代替法開発の動向

C-1-1 化粧品指令第7次改正

化粧品指令第7次改正が2003年3月11日付けで公布され¹⁾、公布から6年を経て、欧州域内での動物実験禁止が2009年3月に施行された。また、反復投与毒性、生殖毒性、毒物動態以外の動物実験を実施した原料を配合した化粧品のEU域内での販売も禁止された。欧州委員会が採択した段階的廃止スケジュールでは、皮膚感受性、亜急性及び亜慢性毒性、UV誘導毒性、光ア

レルギー(感作)及び発がん性についても2013年3月を禁止期限として挙げている。これらを「反復毒性」として分類した理由は、毒性が反復投与の結果として生じるという事実にあるとしている。2010年7月に、欧州委員会の保健・消費者保護総局(DG SANCO)が2013年に禁止される試験について、各試験の専門家の意見というレポートをウェブに掲載し、それに対する意見募集を実施した。このレポートでは、動物試験を実施した原料を配合した化粧品のEU域内での販売が2013年に禁止される反復投与毒性、感作性、発癌性、毒物動態、生殖毒性について、2013年までにこれらの試験の代替法の確立は困難と記述されている²⁾。2011年9月に欧州委員会から出された欧州議会・閣僚理事会の報告では、2009年禁止の7項目中5項目が終了し、眼刺激性、急性毒性の2項目が検討進行中であること、2013年禁止の3項目(反復投与毒性、生殖毒性、薬物動態)については2013年までに完全代替不可であることが報告されている³⁾。欧州委員会は今後の対応について、最終決定を2011年末までに公表予定としていたが、その期日までには公表されなかった。

化粧品指令第7次改正は、2009年12月に再編され、新化粧品規則(1223/2009/EC)として告示された⁴⁾。同化粧品規則では、既存化粧品の安全性に関して重大な懸念が生じる場合、加盟国は欧州委員会に動物実験禁止の適用除外を認めることができることが、以下の条件付で定められている。

- ・当該成分が広く使用されており、同様の機能を果たすことのできる別の成分に置き換えられることができない場合
- ・ヒトの健康に対して問題のあることが実証されており、動物実験を行うことが正当化され、かつ評価のための詳細な研究プロトコル提案がある場合

2010年5月には、欧州化粧品原料連盟(EFfCI; the European Federation for Cosmetic Ingredients)が化粧品指令第7次改正の動物試験条項に対応するための技術的ガイダンスを公表した⁵⁾。このガイダンスでは化粧品指令の法解釈を確定しておらず、法律遵守の判断の責任は化粧品会社にあるとしている。

化粧品指令第7次改正の基本的骨子は、以下の通りである^{1), 6), 7)}。

○化粧品及び化粧品原料のEU域内の動物実験禁止

- ・化粧品：加盟国の国内法施行後に即時禁止
※猶予期間は最大18ヵ月(2004年9月)
- ・原料：代替法がある場合は加盟国の国内法施行後に即時禁止、完全な動物実験禁止は化粧品指令発効の6年後(2009年3月)。

- ・EU委員会は、Organization for Economic Co-operation and Development (OECD) のバリデーションの進展を考慮した上で、SCCNFP及びECVAMと協議して、種々の試験の段階的廃止に関する期限などの予定を立案する。
- 動物実験を実施した製品又は動物実験を実施した原料を含む製品のEU域内の販売禁止 (EU域外での動物実験がなされた製品及び原料も含む)
- ・代替法がある場合は、加盟国の国内法施行後に即時禁止
 - ※猶予期間は最大18ヵ月 (2004年9月)
- ・完全な販売禁止は、化粧品指令発効の6年後 (2009年3月)以降
 - 例外：反復毒性、生殖毒性、薬物動態試験については2013年3月からの販売禁止
- ・EU委員会は、OECDのバリデーションの進展を考慮した上で、SCCNFP及びECVAMと協議して、種々の試験の段階的廃止に関する期限などの予定を立案する。

C-1-2 ECVAMにおける代替法開発状況

化粧品指令第7次改正では種々の動物試験の段階的廃止に関する timetable 作成が要求されている。本件に関しては、2004年4月30日に、“Report for establishing the timetable for phasing out animal testing for the purpose of the Cosmetic Directive”をECVAMが報告している⁸⁾。このECVAMの報告書では、皮膚腐食性、皮膚刺激性、光毒性、光遺伝毒性を除く多くの試験法は、化粧品指令第7次改正の禁止年には完全代替は困難と予測されている。

ECVAMは第7次 Framework Programme on Research and Development (FP7)として2008年5月より Predict-IV というプロジェクトを5年間の予定で開始した⁹⁾。このプロジェクトは、動物によらない試験系、細胞生物学、機能毒性学及び *in silico* を統合することによって、迅速かつ安価に薬物の安全性を評価する戦略を作ること目標としている。2011年6月に第3回年次報告が出され、各WPの進捗状況が示された¹⁰⁾。

FUB (Freie Universität Berlin)、HSI-UK (Humane Society International-UK)、CARDAM-VITO (Centre for Advanced R&D on Alternative Methods at the Flemish Institute for Technological Research) は、第7次 Framework Programme on Research and Development (FP7)として2010年1月より AXLR8 (accelerate) という共同活動を開始した¹¹⁾。AXLR8は、ヨーロッパ及び国際研究内容をまとめ、議論することで、毒性経路 (TP) を基盤とした

パラダイムへの転換を促進するプログラムである。2011年の報告書が作成され、進捗状況が示された¹²⁾。

皮膚刺激性試験代替法に関しては、ECVAM 科学諮問委員会 (ECVAM Scientific Advisory Committee; ESAC) が、2007年に EPIKIN、2008年に EpiDerm SIT と SkinEthic Reconstructed Human Epidermis (RhE)を承認した。これらの試験法は、無皮膚刺激性物質 (EUにおけるノンラベル区分) と皮膚刺激性物質 (R38の注意表示をする区分) を判別できる試験法であることから、化粧品原料の評価にも活用されると考えられる。これら3種の試験法は、2010年7月に OECD テストガイドライン 439 として採択された¹³⁾。

眼刺激性試験代替法に関しては、ECVAMにおいて弱い眼刺激性を検出するために細胞を用いた方法 (Neutral Red Release; NRR、Red Blood Cell; RBC、Fluorescein Leakage; FL、Cytosensor Microphysiometer; CM) が再評価され、2009年7月7、8日の第31回 ESAC 会議において、CMが水溶性物質 (及び混合物) の眼腐食性と強刺激性を確認する試験法として、また水溶性の界面活性剤及び水溶性の界面活性剤配合の混合物に対して無刺激性を確認するための試験法として承認された。さらに、FLは水溶性物質 (及び混合物) の眼腐食性と強刺激性を確認する試験法として承認された¹⁴⁾。これら試験法は、2009年9月に公開されたドラフト OECD テストガイドラインに収載された¹⁵⁾。また、3D培養モデル (SkinEthic Human Corneal Epithelial Model、EpiOcular OCL-200 Model) のバリデーションが実施されている。

皮膚感作性試験代替法に関しては、Direct Peptide Reactivity Assay (DPRA)、human Cell Line Activation Test (h-CLAT)、Myeloid U937 Skin Sensitisation Test (MUSST) の3試験のプレバリデーションが実施されている¹⁶⁾。

ECVAMはESACの再編と専門家集団 (EcvamExpertPool: EEP) 設置を告知し、また新たに、ECVAMの活動に対する意見を求めるための ECVAM Stakeholder Forum (ESTAF) を設置し、年1回の会議が予定されている¹⁷⁾。

C-1-3 SCCS の状況

Scientific Committee on Consumer Safety (SCCS) は欧州委員会のもとにある化粧品の安全性に係わる科学委員会であり、その前身は Scientific Committee on Consumer Products (SCCP) であり、また、Scientific Committee on Cosmetic products and Non-Food Products intended for consumers (SCCNFP) である。

前年度においては代替法関連のステートメントとして「化粧品成分の皮膚吸収の *in vitro* 評

価のための基本的規準」 「皮膚刺激性試験のための EPISKIN™ *in vitro* 試験についての覚書」が採択されるなどの進捗があった¹⁸⁾¹⁹⁾。しかし、本年度においては代替法に関して特筆すべき内容は見当たらない。

C-1-4 EU 委員会の状況

2005年11月7日に行われた欧州委員会主催のワークショップ「EU goes Alternatives」において3Rs宣言が発表され、今後、EUの各産業分野において、効果と安全性の両面に関する代替法の開発を促進することが宣言された。EPAA (European Partnership for Alternative Approaches to Animal Testing) は欧州委員会、工業会(化学品、医薬品、化粧品)、様々な産業分野における会社の共同のパートナーシップである²⁰⁾。欧州委員会からは企業(DG Enterprise)、研究(DG Research)、健康と消費者保護(DG Health and Consumer Protection)、環境(DG Environment)、共同研究センター(DG Joint Research Centre)の5つの総局が参加している。工業会はCEFIC(欧州化学品工業会)、EFPIA(欧州製薬団体連合会)、COLIPA、IFAH-Europe(欧州動物愛護協会)、AISE(石鹼洗剤協会)、ECPA(欧州農薬工業会)などの団体が参加しており、企業からは医薬品、化粧品、化学品メーカーなど35社が参加している。その目的は、動物を用いる安全性試験の代替のアプローチとしての新しい3Rs(refine, reduce, replace)の推進である。

パートナーシップの構造は以下の通りである。

- ・年次大会：ヨーロッパとグローバルにおける進歩を再検討する、年に一度の“3Rs”イベント。
- ・パートナーシップ運営委員会：欧州委員会、関連業界、企業からなり、レビューワークプラン、戦略、タイムラインを提案する。
- ・ワーキンググループ：欧州委員会、企業、適切な専門家のサポートで個々のテーマを扱う小ワーキンググループ。
- ・ステークホルダーのミラーグループ：学界、動物福祉団体、患者団体、消費者保護グループ、他のステークホルダーからなり、より広い見地で運営委員会にアドバイスする。

2006年5月に今後5カ年の活動計画が公表され、2009年にはこの計画の見直しが行われ、2010年11月30日での第6回年次大会(Annual Conference 2010)にて2011年から2015年を対象とした新規5カ年活動計画が公表された。この活動計画は初期5カ年の成果ならびに2009年に実施した、より効率的、且つ資源を最大限に活用するための構造改革が反映されている。活動計画は以下の3つの主題で構成される²¹⁾。

- ・Platform on Science;コンピューター/システムサイエンスに関する知識と科学上のギャップの同定、ならびに今後、さらなる研究が必要とされる分野の特定、研究促進
- ・Platform on 3Rs in Regulation;規制上要求される試験への3Rsの活用、ならびにIntegrated testing strategyの信頼性向上
- ・Platform on Dissemination & Communication;規制当局ならびに動物実験従事者に3Rsを普及させる為のコミュニケーションツールの開発と改善

2011年の主な活動状況については以下のとおりである²²⁾。

- ・発生神経毒性試験代替法に関する第3回国際会議
- ・統合的試験戦略(ITS)と3Rsに対する影響に関するワークショップ開催
- ・皮膚感作性のための最適化試験戦略に関する分野横断的ワークショップ
- ・トキシコキネティクスモデリングから *in vivo* 用量反応曲線予測への更なる統合に向けた可能性とギャップに関するワークショップ
- ・2011年EPAA年次大会

REACH²³⁾⁻²⁶⁾については、EU域内で年間1トン以上製造・輸入されるすべての化学物質の登録を既存物質と新規物質を区別せずに義務付けるものであり、2007年6月1日に施行され、2008年6月1日に新官庁である欧州化学物質庁(European Chemicals Agency; ECHA)が発足した。それと同時に年間1トン以上製造/輸入されている既存化学物質の予備登録が開始され、2008年12月1日に締め切られた。約6万5千社から約260万件の予備登録がなされた。既存物質の登録期限は物質の製造・輸入量や有害性への懸念によって分けられ、年間1000トン以上の製造/輸入量のある物質の登録は2010年11月30日に締め切られた。

また、年間1000トン以下に該当する物質の登録期限は以下のとおりである。

- ・年間100~1000トンの製造/輸入量のあるもの：2013年5月31日
- ・年間1~100トンの製造/輸入量のあるもの：2018年6月1日

年間1トン以上の物質の登録には、製造・輸入量に応じて物理化学的性状、ヒトの健康への有害性、生態毒性の情報が必要となる。動物試験が行われる場合、重複を避けるために関係書類の審査が義務づけられる。ヒトに対する毒性に関する情報は、可能なら代替手段によって脊椎動物以外の方法を用いて入手する。これらの代替手段はEU委員会によって確認され、さらに欧州化学物質庁又は国際的な機関によって認定され