

表2 ICATM ワークプラン 2010~2011

目的	試験法	主催施設	状況
急性毒性試験	細胞毒性試験 (最高適用濃度決定試験)	ICCVAM	OECD ガイドライン No.129 (2010)
	細胞毒性試験 (LD <sub>50</sub> の代替)	ECVAM	第三者評価中
眼刺激性試験	動物実験	ICCVAM	OECD ガイドライン TG405 の改定検討中
	細胞機能試験 (サイトセンサーアッセイ, 蛍光色素法)	ECVAM	TG 案検討中
	BCOP 法	ICCVAM, ECVAM	OECD ガイドライン TG437 の改定検討中
	細胞毒性試験 (STE 法)	JaCVAM	第三者評価準備中
	3次元培養角膜モデル	ECVAM	バリデーション中
腐食性試験	培養皮膚モデル, 摘出皮膚	ICCVAM	OECD ガイドライン TG430, 431 の改定検討中
皮膚刺激性試験	培養皮膚モデル EPISKIN, EpiDerm, SkinEthics	ECVAM	OECD ガイドライン No.439 (2010)
	培養表皮モデル LabCyteEPI-MODEL	JaCVAM	第三者評価, TG 案検討中
光毒性試験	ROS アッセイ	JaCVAM	バリデーション中
皮膚感作性試験	局所リンパ節試験 (LLNA)	ICCVAM	OECD ガイドライン No.429 改定 (2010)
	局所リンパ節試験 (LLNA: DA)	JaCVAM, ICCVAM	OECD ガイドライン No.442A (2010)
	局所リンパ節試験 (LLNA: BrdU-ELISA)	JaCVAM, ICCVAM	OECD ガイドライン No.442B (2010)
	ペプチド結合試験	ECVAM	バリデーション中
	細胞試験 (KeratinoSens, h-CLAT, MUSST)	ECVAM	バリデーション中
遺伝毒性試験	in vitro 小核試験	ECVAM	OECD ガイドライン No.487 (2010)
	in vivo & in vitro コメットアッセイ	JaCVAM	バリデーション中
	3次元培養表皮モデルを用いる試験	ECVAM	バリデーション中
発がん性試験	形質転換試験 (SHE アッセイ, 3T3 アッセイ)	ECVAM	第三者評価, TG 案検討中
	形質転換試験 (Bhas アッセイ)	JaCVAM	第三者評価準備中
代謝試験	in vitro 肝細胞代謝試験	ECVAM	バリデーション中
内分泌かく乱スクリーニング	STTA 法	JaCVAM	OECD テストガイドライン No.455 (アゴニスト法), アンタゴニスト法はバリデーション中
	AREcoscreen	JaCVAM	第三者評価終了
	Lumi-Cell アッセイ	ICCVAM	第三者評価中, TG 案検討中
	CCi アッセイ	ICCVAM	バリデーション中
	MELN アッセイ	ECVAM	バリデーション中

れからも多くの試験法が国際協力を経て、OECD テストガイドラインとして採択されていくことになる。しかも、BCOPやICEのように極めて短期間でガイドラインとなるであろう。

ところで、ICATM への協力は日本にとってどのような影響があるか、その長短所を認識する必要がある。まず、長所であるが、日本の試験法がガイドラインとなる可能性が高まった。膨大な英文資料の準備などを ECVAM や NICEATM の専門家が協力して頂ける環境は我々にとって好都合である。LLNA: DA や LLNA: BrdU-ELISA のテストガイドラインへの採択は国際協調の賜物である。日本で進めているコメットアッセイや形質転換試験法 Bhas アッセイの国際バリデーションが円滑に進んできたことも、彼らの協力的な姿勢によるもの大きい。

次に短所を考えてみたい。第1の問題点は国際バリデーションの実施である。国内参加施設だけのバリデーションは認められにくくなる。OECD テストガイドラインはある国だけに適用される試験法を認めるものでなく、国際的な施設が使用できる試験法を推奨しているからである。これまでの日本のバリデーションは、

日本の参加施設が手弁当でバリデーションに協力して頂いてきた。この献身的なバリデーションにより、質の高いデータが得られており、有用な手順であったと考えている。ところが、欧米のバリデーションは、ビジネスの一環である。1つのバリデーションの実施にあたり、3000~4000万円の予算が必要と言われているが、その半分は参加施設への委託経費である。その点で国際バリデーションには日本の手弁当方式が通じにくくなる。JaCVAM の象徴と言われるコメットアッセイの国際バリデーションのように、傘下施設の手弁当で実施されているものがあるが、これはここに至るまでの日本の遺伝毒性専門家の国際的な貢献度によるもの大きい。それを認識せず、どの分野でもこの方式が採用できることはないと考えべきである。

さらに、国際協調における日本人の最大の弱点は、国際的な第三者評価である。ICATM の取り決めでは、バリデーション終了後に開催される第三者評価にも国際協力が必要である。欧米で開催される第三者評価に必ず日本人専門家を推薦していくことになるが、英語が日常言語ではない日本人が欧米人の討論の中で存在感を示すことは難しい。さらに、これを JaCVAM 主催

で開催するためには、日本で第三者評価をコーディネートできる専門家を探さねばならない。日本の専門家が少ないならば、海外の専門家に座長として金銭を払って委託するしかないが、予算面から不可能に近いと考えている。加えて、現状では国際的な第三者評価会議や書類整備に必要な予算を捻出できない。しかし、将来的には、民間からの基金を利用するなど何らかの手筋を通して、JaCVAM 主導の第三者評価実現を目指さなければならない。それができて JaCVAM はやっと一人前の組織と国際的に認められるのであろう。

## 2. 日本の問題と提案

以上のような国際動向の中、過去5年間の代替法に関する日本の動向をまとめてみたい。まず、2006年第6回国際会議(WC: The World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences)を東京で成功させ(13)、日本動物実験代替法学会を中心とした研究者が世界に存在感を示した(14)。2006年NEDO(独立行政法人 新エネルギー・産業技術総合開発機構プロジェクト)において(15)、高機能簡易型有害性評価手法の開発プロジェクト、2007年からは構造活性相関手法による有害性評価手法開発プロジェクトが始まったというように代替法研究は着実な歩みを見せている。今年から、経済産業省や農林水産省の新たなプロジェクトがスタートする。ただし日本は、国際的に高い技術力を有しているが、その力は内向きであるとよく感じる。願わくば、①動物実験代替法学会やトキシコロジー学会などが中韓などのアジアを束ね、欧米との架け橋となる国際交流を推進するべきである、②行政機関が欧米の規制を考慮した試験法の共同開発を目指すべきである、③タイムリーに日本のプロジェクトおよびその成果を発信していくべきである、④代替法とい

う言葉自体に捉われず、発想を転換して、従来のトキシコロジーの枠を超えた *in vitro* トキシコロジーを発展させることが重要と考える。それが、結果的には新しい動物実験に頼らない試験法の開発につながると考えている。

代替法の社会的な必要が低い日本では、どうしてもその必要性が高い欧州の政治的な力に翻弄されがちである。しかし、内弁慶にならず、もっと世界的な交流を深め、世界が必要としている試験法を提供していくべきであると考えている。

次に JaCVAM に関しての総括である。2005年 JaCVAM の活動が始まった。JaCVAM は設立から5年間で、OECD テストガイドライン No.442A (LLNA: DA), No.442B (LLNA: BrdU-ELISA) の採択を成し遂げた。JaCVAM 国際バリデーションの象徴であるコメントアッセイや Bhas アッセイ、STTA アッセイへの期待も大きい。表3に示すように、日本人研究者は、過去10年に絞っても多くの試験法のバリデーションに関与し、OECD の多くのテストガイドラインの採択に協力してきた(6, 16-21)。表2に示す ICATM ワークプランにも多くの試験法のバリデーションに関与しており、国際協調を順調に進めている。さらに2011年2月4日に厚生労働省より代替法に関する事務連絡「医薬部外品の承認申請資料作成等における動物実験代替法の利用と JaCVAM の活用促進について」がなされた(22)。この事務連絡には、2006年に通知された事務連絡「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」掲載の代替法利用記載の再確認と JaCVAM での評価書の活用およびその周知が示されている(23)。これにより、JaCVAM 評価書(6)の位置付けが明確になり、医薬品、医薬部外品等の許認可に利

表3 過去10年間に日本で行われてきた国内バリデーションまたは日本人が参加してきた国際バリデーション

目的	試験法	主催施設	OECD テストガイドライン (TG) の状況	JaCVAM における行政的な受入れ
眼刺激性試験	細胞毒性試験 (SIRC 法等)	厚生労働科学研究, 日本化粧品工業連合会		
	STE 法	日本動物実験代替法学会, 厚生労働科学研究		
腐食性試験	培養皮膚モデル	日本動物実験代替法学会		認証
皮膚刺激性試験	培養皮膚モデル	日本動物実験代替法学会		
	培養表皮モデル LabCyte	日本動物実験代替法学会, 厚生労働科学研究	TG 案検討中	
光毒性試験	酵母・赤血球試験	日本動物実験代替法学会		要再検討
	ROS アッセイ	日本製薬工業協会		
皮膚感作性試験	LLNA: DA	日本動物実験代替法学会	TG No.442A	認証
	LLNA: BrdU-ELISA	日本動物実験代替法学会	TG No.442B	認証
	h-CLAT アッセイ	ECVAM		
遺伝毒性試験	コメントアッセイ	日本環境変異原学会 MMS 研究会		
発がん性試験	形質転換試験 3T3 アッセイ	ECVAM	TG 案検討中	
	形質転換試験 Bhas アッセイ	NEDO		
内分泌かく乱スクリーニング	SITA 法	化学物質評価研究機構, 厚生労働科学研究	TG No.455	
	AREcoscreen	化学物質評価研究機構		
	Lumi-Cell アッセイ	ICCVAM	TG 案検討中	
	CCi アッセイ	ICCVAM		

用される可能性が高まった。

さらに、JaCVAMは今年より、国立衛研の中の正式なプロジェクトとなる計画が進んでおり、これまでの活動から正式な国立衛研の組織として認められる可能性が高い。これまで助言と支援機関であったJaCVAM運営委員会が、国立衛研副所長（あるいは所長）、国立衛研安全性生物試験研究センター運営会議構成員、厚生労働省担当部局代表者、医薬品医療機器総合機構代表者により構成される組織に変更となり、決定機関となる。これにより、国内外の他の行政機関、学会、業界との連携、協力が強化されると予想している。このように、JaCVAMも変革期を迎えている訳である。

残念ながら、現状ではJaCVAMはICCVAM、ECVAMと同等の組織と国際的には認識されているものの、ICATMの組織構築の中では、今一つ存在感を示せていない。JaCVAM本体の脆弱性（法的な基盤のなさや、規模の小ささ、層の薄さなど）が原因であろう。JaCVAMに携わる者としてこのような懸念は十分に認識しており、現状に満足している訳ではない。今回の組織改定により、日本での必要性が高い試験法の範囲内で徐々にその差を埋めていくことになろう。そこで、日本の国際的な対応方針を以下のように明確にしたいと考えている。

- 1) 日本で開発された試験法を中心に、安全性評価と3Rに優れた試験法を国際社会に送り出す。  
トキシコゲノミックスのデータベースやEmbryonic Stem (ES) 細胞やInduced Pluripotent Stem Cells (iPS) 細胞の応用研究等、日本の得意分野として行われている研究を中心に開発された試験法を公定化する。
- 2) 動物実験の3Rの中でも、削減に関する試験法の開発を進める。  
欧州では動物実験が関与するバリデーションをできない状況である。この点に自由がきく日本で既存試験法の統合や、試験期間の短縮、動物数の削減を眼中においたバリデーションを精力的に企画する。
- 3) 既存試験法の再点検を行う。  
代替法に関わらず、完璧な試験法は存在しない。ガイドラインとなったものでも、データを積み重ね、安全性評価のレベルを高めるため、定期的に見直さねばならないという姿勢を貫く。

### おわりに

前述したように、代替法の研究開発、公定化に関する過去5年間のJaCVAMおよび日本の学会の国際貢献度は高い。ただし、WCの頃感じた国際社会の日本への期待は冷めつつあると感じている。日本人研究者は、もっと国際交流を深め、世界が必要としている試験法の研究・開発を考えるべきである。また、JaCVAMもICATMの傘下において欧米間での調整役を果たし、存在感を示さねばならない。

現状では、都合のいいところで、国際協調を持ちだされて日本の存在を利用されるだけである。日本の国際的な位置付けを高めるためにも、我々はそろそろ次

の段階に上がらねばならない。まず日本の技術力を利用して、必要性の高い分野においてより多くの画期的な試験法を開発していくことが重要である。次に、JaCVAM組織改定を機に、行政、学会、業界の力を結集し、協力者の層を厚くする必要がある。これまで以上に多くの専門家の協力を得て、バリデーションや第三者評価を進め、行政的な受け入れへの協力を通して試験法の公定化を進めていきたい。これが、代替法研究ばかりでなく、トキシコロジーの分野での国際的な貢献度を増すことに繋がり、国際社会での確かな地位を築く道につながると思っている。

### 文 献

- 1) Russell WMS, et al. The principles of humane experimental technique. Methuen; 1959.
- 2) 環境省 (2011). <http://www.env.go.jp/press/press.php?serial=13753>
- 3) OECD. Series on testing and assessment Number 34 (2011). [http://www.oecd.org/officialdocuments/displaydocumentpdf?cote=env/jm/mono\(2005\)14&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/displaydocumentpdf?cote=env/jm/mono(2005)14&doclanguage=en)
- 4) ICCVAM (2011). <http://iccvam.niehs.nih.gov/>
- 5) ECVAM (2011). <http://ecvam.jrc.ec.europa.eu/>
- 6) JaCVAM (2011). <http://jacvam.jp/>
- 7) ICATM (2011). <http://iccvam.niehs.nih.gov/about/icatm.htm>
- 8) 厚生労働省 (2011). <http://www.mhlw.go.jp/houdou/2008/08/h0814-1.html>
- 9) KoCVAM (2011). <http://www.nifds.go.kr/nitr/contents/m91100/view.do>
- 10) OECD Test guideline (2011). [http://www.oecd.org/document/40/0,3746,en\\_2649\\_34377\\_37051368\\_1\\_1\\_1\\_1,00.html](http://www.oecd.org/document/40/0,3746,en_2649_34377_37051368_1_1_1_1,00.html)
- 11) ICH (2011). [http://www.pmda.go.jp/ich/ich\\_index.html](http://www.pmda.go.jp/ich/ich_index.html)
- 12) OECD Draft test guideline (2011). [http://www.oecd.org/document/22/0,3746,en\\_2649\\_34377\\_1916054\\_1\\_1\\_1\\_1,00.html](http://www.oecd.org/document/22/0,3746,en_2649_34377_1916054_1_1_1_1,00.html)
- 13) Proceedings of 6th World Congress on Alternatives & Animal Use in the Life Sciences. Altern Animal Test EXperiment. 2008;14 Special Issue.
- 14) 日本動物実験代替法学会 (2010). <http://www.asas.or.jp/jsaae/>
- 15) NEDO (2011). <http://www.nedo.go.jp/content/100104323.pdf>
- 16) 大野泰雄. 国立衛研報. 2004;122:1-10.
- 17) 小島肇夫. 化粧品技術者会誌. 2006;40:263-268.
- 18) 小島肇夫. 薬学雑誌. 2008;128:747-752.
- 19) 小島肇夫. コスメティックステージ. 2010;4:56-61.
- 20) 小島肇夫. 創薬研究のストラテジー. 金芳堂; 2011. p. 41-48.
- 21) 小島肇夫. ドージンニュースNo.138. 2011. p. 1-9.
- 22) 厚生労働省 (2011). <http://www.hourei.mhlw.go.jp/hourei/doc/tsuchi/T20110207E0020.pdf>
- 23) 化粧品・医薬部外品製造販売ガイドブック 2008. 薬事日報社; 2008.

### 著者プロフィール

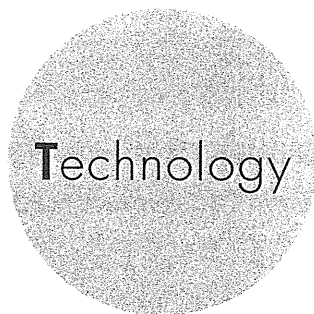
小島 肇 (ペンネーム: 小島肇夫) (こじま はじめ)

国立医薬品食品衛生研究所 安全性生物試験研究センター 薬理部 新規試験法評価室 室長、藤田保健衛生大学 医学部 客員講師、薬学博士。

◇1983年岐阜大学・農学部農芸科学科卒業。同年日本メナード化粧品株式会社入社。'84～'86年国立遺伝学研究所・形質遺伝部留学。

'96年長崎大学薬学部にて博士号取得。'05年国立医薬品食品衛生研究所入所。◇研究テーマ: 毒性学、遺伝毒性、組織培養、局所毒性、in vitro 研究。





# 第8回 国際動物実験代替法会議 (8th World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences) 参加記

国立医薬品食品衛生研究所

小島肇夫

## 1

### 会議概要

平成23年(2011年)8月21~25日に、カナダ・モントリオールのHotel Fairmontにおいて、第8回国際動物実験代替法学会(8th World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences: WC8)が開催された。モントリオールは、カナダで2番目の都市ではあるが、古いものと新しいものが混じった居心地のよい都市であった。

主催者からの正確な発表では、世界52の国から800名ほどの動物実験の3R(削減, 苦痛の軽減, 置き換え)に寄与する研究者および動物愛護関係者が参加し、約600の発

表(うち、ポスター発表:約400)があった。日本からも約35名(同伴者は除く)の参加があり、表1に示すような日本人が関与した発表がなされた。6つしかないプレナリー・レクチャーにおいて、林真先生(安評センター)が構造活性相関研究の進捗と国際貢献について講演され、日本の面目を保たれた(写真1)。また、林先生のプレナリー・レクチャー後、黒澤努先生(大阪大学:日本動物実験代替法学会会長)が日本を襲った地震や津波の被害状況を報告された。加えて、展示コーナーの日本動物実験代替法学会のブースにおいて(写真2)、その活動を報告するとともに、東日本大震災の被害状況を伝えていた。改めて、被災者の方々のご冥福および復興を世界の方々と祈念した。

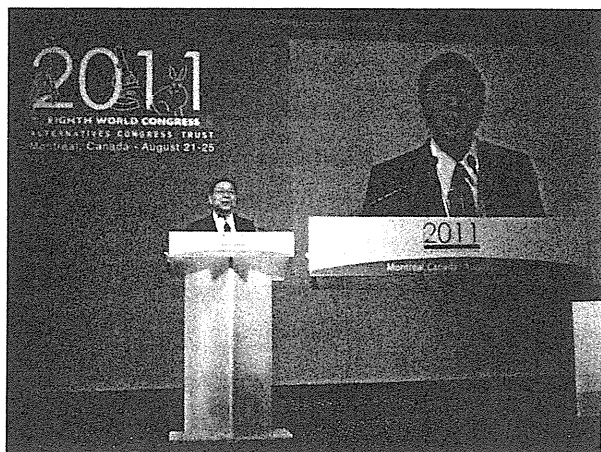


写真1 WC8プレナリー・レクチャーで講演される林真先生

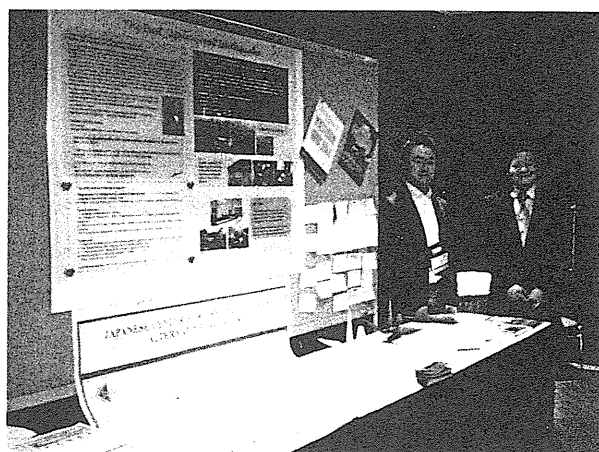


写真2 WC8における日本動物実験代替法学会のブース  
左:小森喜久夫先生(東大), 右:今井弘一先生(大阪歯科大)

プログラムには、5つのテーマが設けられた。①化学物質、医薬品、生物材料の安全性および有効性、②動物実験の政策／法律、公的な連携、倫理問題、③3Rの教育と訓練に関する協力、④苦痛軽減と高品質な動物福祉、⑤代替、削減のための基礎研究である。この中で最も発表数が多いテーマ①は、さらに19のセッションに分けられ、合計約200のポスター発表がなされていた。次に多いテーマ⑤の9セッション、約100ポスターと合わせると、3/4が主に *in vitro* 研究にあたり、本会議の主目的が明確に読み取れる。ただし、テーマ②～④にあたる実験動物の福祉や倫理に関する発表分野も、口演やポスター以外にもマルチメディアの展示がなされ、本会議の主流である。会議の最後にはモントリオール宣言として、「良質な科学における動物の倫理的な利用」に関する採択がなされるなど、本会議の主催が CCAC (Canadian Council on Animal Care) であることもあり、実験動物に関する活動はグループの規模は小さくても大きな存在感を示していた。

## 2

### 化粧品の安全性評価に関係したセッションの情報

さて、本会議中、2013年の化粧品規制の進捗について、何か発表されるかと期待していたが、何の発表もなかったことは残念であったことをまずお伝えしておく。各セッションにおいては、テーマ①の19セッションのうち、化粧品の安全性試験として代表的な感作性、眼刺激性、遺伝毒性において多くの発表がなされていた。そこでこれらの最先端の取り組みを取り上げてみたい。

#### (1) 感作性

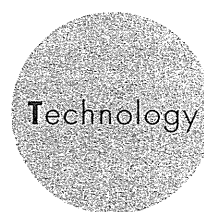
セッション11) および19) で2つのセッションが持たれるほど、最も発表が多かった分野である。口演はほとんどが COLIPA 皮膚タスクフォースや昨年終了した EU の感作性試験代替法の助成研究 Sens-it-iv の成果内容であった。ポスター発表もこの分野だけで59演題もあり、明らかに代替法として本分野に取り組む研究者が多い分野である。発表内容は、新しい *in vitro* 試験法の研究・開発が主であり、数年後のバリデーションはどうなるのか未恐ろしい分野でもある。

#### (2) 眼刺激性

本分野は試験法の開発が進んでいるというよりは、代替法の開発もピークを過ぎ、バリデーション等で淘汰された試験法をどう組み合わせるかを減らすかが主流であると感じた。単一の代替法では強い眼刺激性や無刺激性を切り分けることはできるものの、弱い刺激性、特に回復が伴う微弱な刺激性を評価できない。これまで、あるいはバリデーションが進んでいる試験法を用いて、予測精度を高める取り組みがなされていた。

#### (3) 遺伝毒性

セッション10) では、著者が座長を務めたことからよく認知しているが、遺伝毒性研究が盛んな Health Canada の顔を立て、トランスジェニックマウスの *in vitro* 研究という最新の取り組みをセッションの中心に据えた。しかし、現在のトピックスは、1) *in vivo* コメットアッセイの動向、2) 3次元培養皮膚を用いた小核&コメット試験の利用価値、3) 形質転換試験の可能性 (非遺伝毒性発癌物質をも評価できるの



か)、4) 細胞株の種類と最高適用濃度の検討というテストガイドラインに近い試験法の発展である。口演やポスター発表を通して、それぞれ輪郭が明確になっていた。本年、OECD テストガイドラインでは過去に成立した遺伝毒性試験の整理がなされたが、御蔵に入った試験法に代わり、これらの試験法がガイドラインとして成立する日も近いと感じている。

蛇足ではあるが、追加セッション EPAA (European Partnership for Alternative Approaches to Animal Testing) の円卓会議セッションで日本とEPAA の関係について筆者が発表した。また、追加セッション ICATM (International cooperation on Alternative Methods) では、JaCVAM (日本動物実験代替法評価センター) の近況を筆者から報告した。それらの内容は JaCVAM ホームページ (<http://www.jacvam.jp/jp/index.htm>) に掲載しているので、参照されたい。



## おわりに

アジアにおいては、韓国から10名ほど、インドからも10名前後、中国から5名ほどが本会議に参加していた。日本の参加者数(35名ほど)や発表数から、日本はアジアの盟主として面目を保ったことになる。しかし、2年前のローマでのWC7 から感じていたことであるが、本分野における日本の存在感は薄く、WC7 および WC8 と種々の受賞者の中に日本人の名はない(アジアからはインド人の受賞あり)。日本の発表が評価されるケースは少なく、各分野のトピックスが選抜されるセッションの口頭発表演者は、宇野芳文先生(田

辺三菱製薬)、酒井康行先生(東京大学)、清川順平先生(中外製薬)の3名のみであった。ぜひ、日本の研究者に世界に評価される視点での奮起を促したい。

一方、次回、第9回大会は3年後の2014年、チェコ共和国のプラハで開催され、2017年にはサンフランシスコでの開催が発表された。2007年での日本開催以降、WCは2年ごとに開催されていたが、2014年以降はWC5(2005年)までの3年に一度に戻ることになる。EUにおける動愛法改定が終わり、動物実験の3Rが一段落を迎えたためか、2年に一度では寄付する企業側の負担が大きいためか、どの理由かは明確ではない。2013年のEUの化粧品規制の年の後に、どのような状況となっているのか不明でもあり、3年後のプラハでの展開を楽しみにしている。

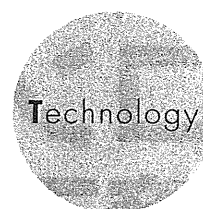
表1 日本からの WC8発表者

表1-1 口頭発表

セッション	演題名	演者	演者所属
プレナリー レクチャー	A challenge to the ultimate Three R's - in silico approach to evaluate chemical safety for humans	Makoto Hayashi	Biosafety Research Center, Foods, Drugs and Pesticides
I-10	Co-chair	Hajime Kojima	JaCVAM, NIHS
II-11	The International cooperation on alternative test methods(ICATM)		
I-10	In vivo Comet Assay: update on the ongoing international validation study coordinated by JaCVAM	Yoshiyumi Uno	Tanabe Mitsubishi Parma
I-19	Development of in vitro skin sensitization assay system in Shiseido	Takao Ashikaga	Shiseido
I-19	Non-animal test battery optimized for detecting skin sensitizing potential	Masaaki Miyazawa	Kao Corp.
II-10	Three Rs in the OIE Laboratory Animal Welfare working group	Tsutomu Miki Kurosawa	Osaka Univ. Medical School
III-6	Discussants		
IV-5	Co-chair		
IV-7	Welfare training for veterinary students		
V-1	Co-chair	Yasuo Ohno	NIHS
V-3	Direct oxygen supply to liver-derived cells using oxygen permeable membranes	Yasuaki Sakai	Univ. of Tokyo
V-5	Characterization of developmental changes and electrophysiological functions in contracting cardiomyocytes derived from human iPS cells	Jynpei Kiyokawa	Chugai Parma

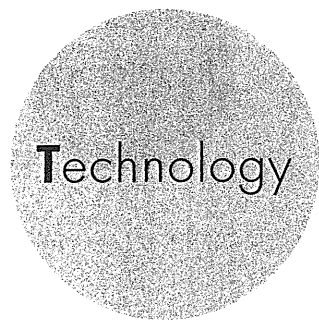
表1-2 日本人が関与しているポスター発表

No.	演題名	筆頭演者	筆頭演者の所属
I-1-504	International validation and evaluation of an alternative to HIST for pertussis containing vaccines	D. Xing	NIBSC,UK
I-2-076	Preliminary study of the revision of Japanese Pharmacopoeia test for rubber closure for aqueous infusions	Hajime Kojima	JaCVAM, NIHS
I-4-454	Results of the validation study of the stably-transfected estrogen receptor alpha transcriptional activation antagonist assay using the HeLa9903 cell line	Atsushi Ono	NIHS
I-8-150	Assessment of eye irritation potential using the reconstructed human Corneal Tissue, LabCyte CORNEA-MODEL	Masakazu Katoh	Japan Tissue Engineering Co., Ltd. R&D
I-8-151	A tiered approach combining the STE test, the EpiOcular assay, the HET-CAM assay and the BCOP assay for predicting eye irritation potential of chemicals	Takayuki Abo	Kao Corp.
I-8-180	Inter-laboratory phase II validation study of in vitro eye irritation test; Short Time Exposure(STE)test	Kazuhiko Hayashi	Kao Corp.
I-8-345	A novel rapid assay useful for eye irritation test using human corneal epithelium model reconstructed in a collagen vitrigel membrane chamber	Toshiaki Takezawa	National Institute of Agrobiological Sciences
I-10-185	A validation study on a Bhas 42 cell transformation assay using 96-well micro-plates	Ayako Sakai	Hatano Research Institute, FDSC
I-10-414	Spectrophotometric measurements of transformation frequency in Bhas 42 cells using hydrogen peroxide	Kiyoshi Sasaki	Hatano Research Institute, FDSC
I-10-629	Comet assay atlas	Jin Tanaka	Biosafety Research Center, Foods, Drugs and Pesticides
I-11-112	Additional validation of alternative skin irritation test method using LabCyte EPI-MODEL24 of cultured skin	Maki Nakamura	KOBAYASHI Pharmaceutical Co., Ltd.



No.	演題名	筆頭演者	筆頭演者の所属
I-11-152	Development of for skin sensitization test using a three-dimensional human skin model consisting of dendritic cells, keratinocytes and fibroblasts on collagen vitrigel membrane for applying to cosmetic products	Tadashi Uchino	NIHS
I-11-153	Statistical prediction model for skin sensitization potential using an integrated dataset from h-CLAT, DPRA and DEREK	Kenji Okamoto	Kanebo Cosmetic Corp.
I-11-177	Development of new methods for evaluate of skin photosensitization potential of chemicals	Makie Ishikawa	Shiseido
I-11-186	An in vitro test screen skin sensitizer using a stable THP-1 derived IL-8 reporter cell line, THP-G8	Setsuya Aiba	Tohoku University Graduate School of Medicine
I-11-189	A strategy for the hazard identification and potency categorization of skin sensitization using a combination of non-animal testings	Yuko Nukada	Kao Corp.
I-11-198	The molecular mechanisms of IL-8 production by hapten-stimulated monocytes; the analysis using a stable THP-1-derived IL-8 reporter cell line, THP-G8	Yutaka Kimura	Tohoku University Graduate School of Medicine
I-11-202	In vitro skin sensitization test; human cell line activation test(h-CLAT)	Takao Ashikaga	Shiseido
I-11-456	Effect of skin barrier function and metabolic ability on the concentration-distance profiles of chemical compounds in reconstructed cultured human skin models	Hiroaki Todo	Jyosai Univ.
I-18-569	International workshop on alternative methods to reduce, refine, and replace the use of animals in human vaccine potency and safety testing	R. McFarland	USFDA, USA
I-18-570	International workshop on alternative methods to reduce, refine, and replace the use of animals in veterinary vaccine potency and safety testing	J. Kulpa-Eddy	USDA, US
II-4-524	AltTox.org: commuication platform for 21st century toxicology	Martin Stephens	HSUS, USA
III-2-517	International harmonization of education and training standards for laboratory animal veterinarians	K. Bayne	AAALAC International
IV-5-401	Investigation about anesthesia of rodent fetuses with transplacental pentobarbital administration	Hiromasa Takashima	Hatano Research Institute, FDSC
V-1-085	Evaluation of multiple drug interaction	Yuji Yoshiyama	Kitasato University School of Pharmacy
V-1-096	Involvement of acetylcholine and response to reduction in phosphorylated connexin43 in drug development research for ischemic heart disease	Hideto Ariumi	Kitasato University School of Pharmacy
V-1-105	Novel Culture Configuration Accelerating and Enhancing Hepatocyte Polarization	Hitoshi Matsui	Life-BEAN Center
V-1-248	Development of alternative to oral mucosa irritation test by modified STE test	Yoshihiro Yamaguchi	KOBAYASHI Pharmaceutical Co., Ltd.
V-1-350	Development of multicolor luciferase assay systeme for in vitro chemical risk analysis	Yoshihiro Nakajima	National Institute of Advanced Industrial Science and Technology
V-1-358	Development of a new reconstructed human epidermis(RhE)-based screening assay for contact allergens	Masaaki Miyazawa	Kao Corp.
V-3-347	Use of Liver Microsome S9 Fraction-Containing Microcapsules to Include Liver Biotransformation Processes in Cytotoxicity Tests	Kikuo Komori	Univ. of Tokyo
V-5-181	Compare with Three Kinds of ES Cells Using Two and Three-dimensional Culture System	Koichi Imai	Osaka Dental Univ.





## 技術講座

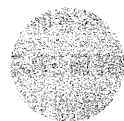
# 安全性評価試験(1)

## —安全性評価の考え方—

国立医薬品食品衛生研究所

小島肇夫

HAJIME KOJIMA



### はじめに

今号より、動物実験代替法から動物実験、ヒト試験までを含めた安全性試験法の技術講座を連載させて頂くことになった。昨今、*in vitro* 試験しか経験のない安全性担当者や書類ベースでのみ安全性を評価している研究者が増え始めていると聞いている。企業も分業化が進み、筆者のように企業勤務時代になんでも実験してきた実務者は少なくなってきたようである。そのような方々にもできうる限りの筆者の経験と知識をお伝えしていきたいので、よろしくお付き合い頂きたい。

もう少し、自己紹介させて頂くが、国立医薬品食品衛生研究所(国立衛研)では、薬理部新規試験法評価室にて安全性試験の開発と評価を行っている。動物実験代替法のバリデーションと評価を担当するJaCVAM(日本動物実験代替法評価センター)の事務局でもあることから、*in vitro* 試験の専門家と見る方もいるが、実は動物実験の経験も長い。筆者は国立衛研に転職するまで、日本メナード化粧品(株)で20年以上、安全性試験、動物実験代替法、変異原性試験および成分の有効性評価に携わってきた。変異原性試験という分野は、微生物から培養細胞、動物実験まで扱うため、幅広い知識を養うために最適な分野である。さらに、化粧品原料の安全性評価に必要な他の試験項目につ

いても、実務を担当させて頂いてきた。ヒトパッチはもちろんのこと、ヒト使用試験で皮膚科医と、誤飲誤食対応で内科医とも交流を深める一方、お客様クレームの解析や市販後調査まで経験させて頂いた。このような経験をもとに、メナードにはご迷惑をかけない範囲で、企業の若い研究者向けに安全性評価の技術的なポイントやノウハウをなるべく安易に伝えていきたいと考えている。



### 1 心構え

さて、安全性評価に関わる企業研究者にとって一番大切なことは「心構え」と思っている。基礎研究を大学等で実施してきた若手研究者は、まず誰もが企業の壁にぶつかる。企業は基礎研究を行う場ではなく、いかに企業を支え、お金になるかという応用研究を重視するからである。意気揚々と配属されてくる新人が、このミッションを理解して職場に活気を与えることになる。ところが、この中で安全性に配属された新人はだんだん元気がなくなっていくという印象を持っている。これは仕方がない面もある。どの会社においても製品開発は花形である。普段からの待遇もよい。社内の賞にも恵まれやすい。どんなに失敗をしてもヒット商品を担当させて頂くことにより、その新人は社内で確実に足場を築き、自信をつけていく。打率一割を切る打者はプロ野球ではやって

いけないが、それがすべてホームランなら企業の有力な戦力である。では、安全性担当者はどうか。1,000の製品の評価を適切に実施してきた研究者が、1つのミスで大きな損害を会社に与えかねない。その確率は0.1%未満であってでも、致命的なミスはミスである。筆者も1つのミスで、会社をつぶす気かと上司にどやされた苦い経験を持つ。1つのミスでそれまでに築いた信用を失うことは痛く、悲しい。同期や後輩が社長賞等を受け、出世し、自信を深めていく姿とは対照的ではある。とはいえ、会社の利益向上を支える彼らに感謝を忘れてはならない。

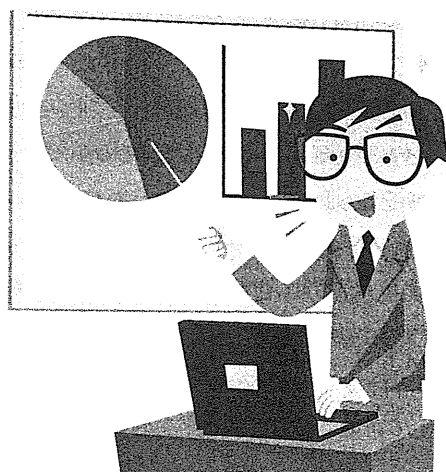
では、安全性担当者はどこにモチベーションを見出すべきか。基礎研究を会社の利益になるからという視点から継続して許可して頂ける環境を与えてくれる企業は少ない。これは化粧品企業に限ったことではなく、化学品や製薬企業でも同じ状況であり、安全性を長く務めている方々と学会等で集まれば、出世が遅い、開発にどなられた、なかなか研究できない、など景気の悪い話ばかりしていた記憶がある。

しかしこの後向きの発想がいけないのである。前向きに考えること、意識を変えれば態度が変わり、行動も変わるとあの野村克也氏も述べている(野村ノート(小学館))。安全性評価担当は会社の信頼・信用確保のためにも必須の組織である。現代のように、消費者が過剰サービスを要求する時代、気配りを企業に求める時代においては安全性を担当し、クレームに対応できる部署は欠かせない。“会社の屋台骨を支えている”という自信をもっと持たねばならない。以下の項でも説明するが、安全性評価の論理的な思考は会社の中では欠かせないものである。

技術面でいえば、安全性試験法というものはすべての科学実験の基礎から成り立っている分野である。理論や方法

をよく把握し、トレーニングを積み、その方法の改良点を思いつけるほどの第一人者になることが大切である。また、ちょっとした発想転換で、試験法の改良や応用につなげやすく、結果を出しやすい部署でもある。安全性試験から発展させて、特許が書けないこともない。また、試験法というものはできた時点から劣化が始まるので、絶えずメンテナンスが必要なナイーブなものであり、これでよいという限界はない。改良・改善は試験法だけでなく、自分をも磨かねばならないのである。

社内にいるとどうしても閉塞感から抜けられないなら社外に出ればいい。学会や同業他社の集まりに出かけて刺激を受け、そこで発表して自分の居場所を見つけるべきである。上司に無理をいってでも出張し、共同研究があれば積極的に参加するべきである。この共同研究の結果として、外部で評価されるとともに、社のレベルアップに貢献したことを何度も経験している。学会等で発表し、論文でも書けるようになれば外部で評価され、自信がつくと信じている。



## 2

### 安全性評価の考え方

さて、本題の安全性評価の考え方について述べておく。化粧品そのものの安全性はゼロリスクを目指さなければいけない。医薬部外品であろうとも薬用化粧品の場合には、医薬品のように副作用を想定して消費者は使ってくれない。安心して使った物でトラブルを起こすと、危険物を扱う以上に精神的なダメージが大きい。ただし、「世の中にゼロリスクの物質はない、すべての物質は毒物である」と毒性学の父と呼ばれるパラケルススも述べている(キャサレット&ドール:トキシコロジー(サイエンティスト社))。人体に必須な水でさえ、飲み過ぎれば下痢になるし、つまり過ぎれば皮膚が腐る。酸素もないと生きられないが、吸い過ぎれば過酸素症で倒れる。そのような極端な例ではないが、化粧品の場合でもこの商品で致死に至らないか、過度の使用で皮膚トラブルが起きないかの想定は必要である。この想定をするために知識や情報を蓄え、経験を積んで適切なケースバイケースの判断ができる研究者とならねばならない。

そのために、安全性担当者はまず化粧品原料の特性を熟知しなければならない。開発部門に行って処方をよく見て、どの目的でどのような原料が使われているのか、その純度や物性はどうかを知らねばならない。製品のパッケージを見て成分名称と原料商品名をマッチさせねばならない。場合によっては開発担当者よりも化粧品原料を知らなければならない。まず実験ありきではない。防腐剤といわれたら、自社はどの防腐剤が得意で、どの量が最適かを知らねばならない。このような形で市販されている化粧品の処方を覚えるべきである。

次に、分析チームや保存効力担当者と仲良くなることである。原料には規格が決まっており、重金属や不純物を多く含む原料を受け入れないとか、安定性が悪い、微生物汚染しやすい等の理由で選別するシステムが必ずある。社内になくても、原料会社の分析表をよく読むことである。それにより、その原料はロットブレや規格外になりやすいものか否かが判別できる。

第三に、過去にどのような原料が皮膚トラブルを起こしたかをインターネットや過去の文献をひも解いて調べたり、先輩諸氏の知識を吸収せねばならない。その点については本連載でも追々触れていくが、すべての化粧品原料は安全であるとはいえない。ただし、そのリスク評価(使用量や使用方法)でいくらかでも調整できるという意識を持つべきである。たとえば、化粧品原料の1つに水酸化カリウム(アルカリ)がある。これを高濃度で使用すれば、皮膚は腐食する。しかし、アルカリの役割はpH調整剤であると知れば、その使用濃度もおのずと決まってきて、安全な範囲で利用できる。一つひとつの化粧品原料の有害性や危険性を把握し、リスクを考慮して使用する。ただし、忘れてはならないことがある。それは、文献や過去のデータがすべて正しいとは限らないことである。ヒトは嘘をつくという性悪説にたって、GLPは発展してきた。そのデータが信頼できるものか、方法の適用限界をもとに、報告書を慎重に読んで理解すべきである。

最後に、製品の特性、使用方法、使用頻度等を把握し、リスクを評価しなければならない。化粧品という範疇は広い。基礎化粧品から、メイクアップ化粧品、浴用剤などそれぞれの使用状況について過度な使い方まで想定しなければならない。洗顔剤を付け続けければ、顔が腫れる。本当によく落ちるクレンジング剤は皮膚や眼にトラブルを起こす確率が高く

なる。経験をもとにある程度のトラブルを想定しなければならぬ。そのために、製品を使用して理解しなければいけないことに加え、アンケートなどの使用試験結果、市場調査結果やお客様相談室のクレームの中から、安全性に関わる項目を、たえず知る機会を見出すべきである。悪い言い方かもしれないが、その商品を多くの消費者が使用し、問題ないことを立証してくれているものが安全な商品なのである。

よって、それらを極めると、動物実験や *in vitro* 試験ありきでなく、無駄な試験数は減らせる。試験法は単なる安全性の確認手段と考えられる。ヒトの試験を始めるまでに多くの時間と労力を費やすこともなくなるかもしれない。もちろん、原料やそのロットによっては、安定性が悪く、その不純物が有害性を示すことがあるので、気を抜いてはいけぬ。原料メーカーが変わった際に特に注意を払って分析データを読み、過去の経験から有害性が生じる可能性を類推し、それで適切な試験法の実施を選択すべきである。繰り返すが、安全性評価の基本は、総合的な情報収集能力と経験によるところが大きい。そのアンテナを多数持ち、経験を積んだ研究者こそが安全性の専門家、優れた毒性研究者となれる。だからこそ、安全性担当者の立場が社内であらうと悩んでいる暇はない。上記のような例を参考に勉強し、社内外の専門家に会い、自分を磨くことが重要である。

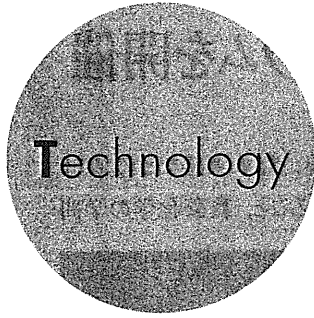


## おわりに

連載初回は、技術講座というよりも心構えや安全性の考え方について言及するに留まった。皆さん知っていることばかりで、ここまで読んでくださらなかったかもしれない。最後まで読んで頂いたことに感謝したい。

今回は、化粧品の安全性評価試験法の概要について、欧米との比較も交えながら解説していきたい。今後ともよろしくお付き合い頂けると幸いである。





技術講座

# 安全性評価試験(2)

## —安全性評価試験法—

国立医薬品食品衛生研究所

小島肇夫

HAJIME KOJIMA



### はじめに

第2回目の技術講座は、試験法について国際比較を通して論じたい。国際比較といっても、欧米中心であり、中国や韓国の試験法については本稿では触れない。この点について不満をお持ちの方はおられると思うが、これらの国も基本は欧米の試験法を採用していることからご容赦いただきたい。

化粧品や薬用化粧品の生物学的安全性試験法の最近の概要については、本誌8月号等で勝田真一先生が執筆されている等もあり<sup>1, 2)</sup>、なるべく重複を避けながら進めるが、重要なことは繰り返しになることをご容赦いただきたい。もちろん、本講座にて、今後、一つひとつの試験法について技術的な問題をあげていくつもりである。

は除毛、染毛、パーマネント・ウェーブ、にきび、肌荒れ、かぶれ、しもやけ等の防止、皮膚・口腔の殺菌消毒、浴用剤などが医薬部外品としてあげられる。

医薬部外品には表1に示すように、区分が1～3に分類されている。薬用化粧品では、新医薬部外品は区分1であり、添加剤として新規成分配合または増量品は区分3にあたる。ところが、それらの多くは米国ではOTC(Over The Counter: オーバー・ザ・カウンター)薬として扱わなければならない。一方、EUではほとんどが化粧品である。国や地域によってそれぞれの役割が異なることもあり、必要とされる安全性も異なってくる。この同じ製品が異なった分類になるという点が、化粧品というものの定義を複雑にしている。

さらに、欧米では安全性の評価に必要な試験はGLP基準(Good Laboratory Practice: 優良試験所基準)に準拠

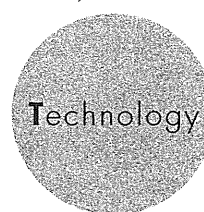


### 1 各国の制度の違い

制度上、一番の問題点は、化粧品と定義されている製品・商品が日米欧で異なることである。特に、日本では医薬部外品という分類が存在している。薬事法でその作用が定められている製品を指す<sup>3)</sup>。近年、その範疇が広がったが、薬用化粧品としては、日焼け止め、美白、口臭もしくは体臭の防止、あせも、ただれ等の防止、脱毛の防止、育毛また

表1 医薬部外品の申請区分とその範囲<sup>3)</sup>

申請区分	医薬部外品の範囲
区分1	既承認医薬部外品とその有効成分又は適用方法等が明らかに異なる医薬部外品(新医薬部外品)
区分2	既承認医薬部外品の承認内容と同一性が認められる医薬部外品
区分2-2	新指定医薬部外品
区分2-3	新範囲医薬部外品
区分3	区分1及び区分2以外の医薬部外品 添加剤として新規成分配合又は増量等



して実施されなければならないが、日本では GLP は必須ではない。ただし、日本においても「十分な設備のある施設において、経験のある研究者により、その時点における医学、薬学等の学問水準に基づき、適正に実施されたものでなければならない」という記載が通知にあり（医薬発第893号、平成11年7月26日）<sup>3)</sup>、何らかの信頼性が担保された試験結果であることが望ましい。

## 2 試験法の相違

制度の違いはあるので、化粧品や薬用化粧品の成分および/または製品に絞って公的に求められる安全性項目および各業界の安全性評価の自主的な指針について必要な試験法を列挙してみたい<sup>3~7)</sup>。例えば、新医薬部外品の場

表2 新規医薬部外品(区分1)に求められる添付資料<sup>3)</sup>

イ 起原又は発見の経緯及び外国における使用状況等に関する資料	1 起原又は発見の経緯に関する資料 2 外国における使用状況 3 特性及び他の医薬品との比較検討等	〃 〃 〃
ロ 物理的・化学的性質並びに規格及び試験方法等に関する資料	1 構造決定及び物理的・化学的性質等 2 製造方法 3 規格及び試験方法	〃 〃 〃
ハ 安定性に関する資料	1 長期保存試験 2 苛酷試験 3 加速試験	〃 〃 〃
ニ 安全性に関する資料	1 単回投与毒性 2 反復投与毒性 3 生殖発生毒性 4 抗原性 5 変異原性 6 がん原性 7 局所刺激性 8 吸収・分布・代謝・排泄	〃 〃 〃 〃 〃 〃 〃 〃
ホ 効能又は効果に関する資料	1 効能又は効果を裏付ける基礎試験 2 ヒトにおける使用成績	〃 〃

合、表2に示すような試験結果が要求される。第1回の繰り返しにもなるが、安全性試験だけで、安全性が判断されるのではなく、物理化学的なものを含む多くの情報を介して、医薬部外品の評価がなされることを確認しておきたい。

各国の試験法については、大きな相違点があるとはいえない（表3）。化粧品という局所に用いる特性を考慮して、局所刺激性（皮膚、眼、光毒性）、皮膚感作性、遺伝毒性などの試験項目は同様である。もちろん、項目としては同じでも試験内容が同じとはいえないが、その類似点は多い。あえて、国際的な試験法に関する相違点をあげておく。

### (1) 皮膚刺激性

欧米では OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development: 経済協力開発機構) テストガイドライン404に準拠し<sup>8)</sup>、腐食性や強い皮膚刺激性の評価に重点をおいている。日本では、一次刺激性試験で24時間貼布を求めている。日本のみで採用されている試験として、動物を用いる連続皮膚刺激性試験がある点からも弱い刺激性の評価を求めている傾向にある。

### (2) 光毒性

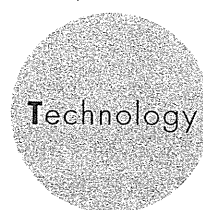
欧州では、光刺激性と光皮膚感作性の評価を明確に区別していない。臨床的にもこれらを区別することは難しいことによる。日本では、試験法が明確に分けられている。紫外部に吸収がなければ省略できる点は世界共通である。

### (3) 粘膜刺激性

米国では眼以外の膺や口腔粘膜刺激性を求めて

表3 規制ごと、各国で指針に記載されている試験法

日本			米国	欧州		
【新医薬部外品】 薬審1第24号 医薬審発第325号 区分1 <sup>3)</sup>	【医薬部外品】 区分3 <sup>3)</sup>	【ポジティブリスト収載 要領】 薬審1第24号 医薬審発第325号 <sup>3)</sup>	【化粧品】 JCIA 安全性評価 指針(2008) <sup>4)</sup>	【化粧品】 CTFA 安全性評価 ガイドライン(2007) <sup>5)</sup>	【化粧品】 COLIPA ドシエ作成 ガイドライン(2008) <sup>6)</sup>	【化粧品】 SCCP 安全性評価 ガイダンス(2006) <sup>7)</sup>
単回投与毒性	単回投与毒性	単回投与毒性	単回投与毒性	—	単回投与毒性	単回投与毒性
反復投与毒性	—	反復投与毒性	—	反復投与毒性 経皮, 経口, 吸入	反復投与毒性	反復投与毒性
生殖発生毒性	—	生殖発生毒性	—	生殖発生毒性	生殖発生毒性, がん原生, 追加の遺伝毒性	生殖発生毒性
局所刺激性 皮膚一次刺激性, 連続皮膚刺激性, 眼刺激性, 光毒性	皮膚一次刺激性	皮膚一次刺激性	皮膚刺激性	皮膚一次刺激性 (ヒトパッチ, ヒト累積 刺激性)	皮膚刺激性	一次刺激性および 皮膚腐食性 1) 皮膚
	連続皮膚刺激性	連続皮膚刺激性	皮膚一次刺激性, 連続刺激性, 光毒性, ヒトパッチ	光刺激性および 光感受性	光毒性	光誘発毒性 1) 光毒性, 光感 作性 2) 光遺伝毒性, 光発がん性
	光毒性	光毒性				
眼刺激性	眼刺激性	眼刺激性	眼刺激性 粘膜刺激性	粘膜(眼)刺激性	一次刺激性および 皮膚腐食性 2) 粘膜(眼)	
抗原性 皮膚感受性, 光感受性	皮膚感受性	皮膚感受性	皮膚感受性 皮膚感受性, 光感受性	皮膚感受性	皮膚感受性	皮膚感受性
	光感受性	光感受性		上述	上述	上述
変異原性	遺伝毒性	遺伝毒性	遺伝毒性	遺伝毒性	変異原性	変異原性, 遺伝毒性
—	—	—	—	経皮吸収	経皮吸収	経皮吸収
がん原性	—	—	—	—	上述	がん原性
吸収・分布・代謝・ 排泄	—	吸収・分布・代謝・ 排泄	—	—	トキシコキネティクス	トキシコキネティクス
ヒトパッチテスト	ヒトパッチテスト	ヒトパッチテスト	上述	上述, 管理下ヒト適用試験	ヒトパッチテスト	ヒトのデータ



いる。日米では毒性が懸念される場合、製品についての眼刺激性結果も求められる。

#### (4) 経皮吸収

欧米では必要性が高いが、日本では記載されていない。

#### (5) ヒト試験

製品に関して、米国ではヒト繰り返し貼付試験後に管理下使用試験が記載されている。欧州でも使用試験の記載がある。日本ではパッチテストのみである。

#### (6) 単回投与毒性

日本では毒性が懸念される場合、製品にも求められる。

各国の試験法一覧は、ポジティブリスト収載品（色素、紫外線吸収剤、防腐剤等）の場合を想定している。他の成分においては、ケースバイケースで試験法を選ぶべきであり、すべての項目が求められる訳ではない。目的や用途、得られた結果などにより、長期の試験（反復投与や生殖毒性、がん原性、トキシコキネティクス）を避けられる可能性は高いが、逆に毒性徴候がある場合には多くの追加結果が必要となる場合もある。欧州では、規制当局から要求された場合、データや報告書の提出が求められるので、慎重な判断が必要である。

なお、これらの項目は、原料成分を対象としている。製品の評価は、基本的にヒトパッチ、ヒト繰り返し貼付試験、ヒトボランティアによる適合試験、使用試験で実施される場合が多いが、米国では眼刺激性試験<sup>5)</sup>、日本ではその毒性によって単回投与毒性試験や眼刺激性試験が求められる<sup>3)</sup>。

一方、昨今大きな話題となっている動物実験代替法（以下、代替法と記す）の採用については、各国ともバリデートされた代替法の活用で一致している。日本では厚生労働省からの事務連絡（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、平成18年7月19日）で「OECD等により採用された代替試験法あるいは適切なバリデーションでそれらと同等と評価された方法（誤解を時々感じるが、バリデーションされただけでなく、正しく実施され、適切な結果であったことを科学的な第三者評価で認められたことを意味する）に従った試験成績であれば差し支えない。」とされている<sup>3)</sup>。2011年2月4日にはさらに踏み込んで、JaCVAM（Japanese Center for the Validation of Alternative Methods：日本動物実験代替法評価センター）<sup>9)</sup>で認められた方法も認めるという通知が厚生労働省によりなされている<sup>10)</sup>。EUでも、EU委員会によって採択された3R（Replacement（代替）、Reduction（削減）、Refinement（苦痛軽減）の意）戦略に関する最新策が組み込まれており、規制当局であるSCCP（Scientific Committee on Consumer Products：消費者製品に関する科学委員会）は化粧品成分の安全性試験に適した代替法の利用に配慮している。一方、米国では現時点では代替法は規制官庁に完全に受け入れられていないが、スクリーニングツールまたは総合的な安全性プログラムの一部として有用としており、ややEUとは趣が異なる。





## おわりに

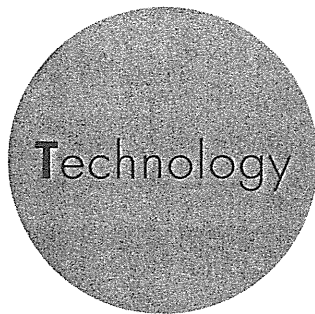
試験法の国際調整は、本来、ICCR (International Cooperation on Cosmetics Regulations:化粧品規制協力国際会議)の仕事であると考え<sup>11)</sup>。ICH (International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use:日米EU医薬品規制調和国際会議)の化粧品版である。ICCRの参加メンバーは行政主導、業界はオブザーバーという点が大きな相違点であり、厚生労働省、FDA、Health Canada、EUの4極が集まって平成19年に設立された。ICCRは今年、ICCR 5がパリで開かれ、この中に化粧品成分の安全性評価と動物代替試験法のテーマがあげられた。本来は、代替法の取り込みを考慮しながら、国際的な舞台で行政的な安全性評価の議論がICCRでなされるべきである。しかし、ICCRで主導権を握っているFDAは、代替法はスクリーニングツールであり、行政的な安全性評価にはそぐわないとの見解を崩さず、EUは規制上では使わなければいけないこともあり、意見が擦りあわない。さらに、EUサイドは試験法の一覧を並べられない。代替法の開発がそれほど進んでおらず、行政的な受入れに必要な組み合わせを提案できないためである。

本問題は、結局は文化的な狙いが違うので議論になりにくい。国際状況や市場を考慮し、試験法の開発具合やその使い方を視野に入れたICCRでの議論が始まることを切に願っている。

## 参考文献

- 1) 勝田真一:化粧品や薬用化粧品の生物学的安全性試験, COSME TECH JAPAN, 1 (3), 5-10(2011)
- 2) 勝田真一:薬用化粧品の承認取得のための安全性試験のあり方をめぐる問題点, 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, pp.30-47, (2010)
- 3) 「化粧品・医薬部外品 製造販売ガイドブック 2011-2012」, 薬事日報社, 東京, pp.160-164, (2011)
- 4) 日本化粧品工業連合会編:「化粧品の安全性評価に関する指針 2008」, 薬事日報社, 東京, pp.1-30, (2008)
- 5) CTFA, CTFA Technical Guidelines-Safety Guidelines, Natasha Clober, Washington D.C., USA, (2007)
- 6) COLIPA, Guidelines for the Safety Assessment of a Cosmetic Product-Colipa, <http://www.colipa.eu/downloads/155.html> (2011)
- 7) SCCP, Notes of Guidance for Testing of Cosmetic Ingredients and Their Safety Evaluation, [http://ec.europa.eu/health/ph\\_risk/committees/04\\_sccp/docs/sccp\\_o\\_03j.pdf](http://ec.europa.eu/health/ph_risk/committees/04_sccp/docs/sccp_o_03j.pdf) (2011)
- 8) OECD GUIDELINE FOR THE TESTING OF CHEMICALS Acute Dermal Irritation/Corrosion [http://www.mattek.com/pages/fileadmin/user\\_upload/files/OECD-404-Acute-Dermal-Irritation-Corrosion.pdf](http://www.mattek.com/pages/fileadmin/user_upload/files/OECD-404-Acute-Dermal-Irritation-Corrosion.pdf) (2011)
- 9) JaCVAM, <http://jacvam.jp/> (2011)
- 10) 「医薬部外品の承認申請資料作成等における動物実験代替法の利用とJaCVAMの活用促進について」(厚生労働省事務連絡, 平成23年2月4日) <http://www.who.gov.jp/hourei/doc/tsuchi/T20110207E0020.pdf> (2011)
- 11) ICCR, <http://www.mhlw.go.jp/bunya/iyakuhin/keshouhin/iccr04.html> (2011)





## 技術講座

# 安全性評価試験(3)

## —バリデーション—

国立医薬品食品衛生研究所 薬理部 新規試験法評価室

小島肇夫

HAJIME KOJIMA



### はじめに

化粧品の安全性試験を語る上で、主流になりつつある動物実験代替法（以下、代替法）の存在は欠かせない。今回は基礎知識として試験法、特に代替法のバリデーションについて説明しておきたい。ここを理解していないと、代替法がなかなか増えない理由、代替法の有用性や適用限界などの疑問を払拭できない。各論に入る前にもう少しお付き合いいただきたい。



### 1

### 試験法確立のプロセス

動物実験の3Rs (Reduction: 実験動物の削減, Refinement: 実験動物の苦痛の軽減, Replacement: 実験動物の置き換え) を考慮した試験法を増やしていかなければならない欧州の状況を受け、化学物質等の安全性試験の公定化には厳密な国際ルールが作られている。これがOECD ガイダンス文書 (GD)34である。昨今、代替法にかかわらず、新規安全性試験法の行政的な受入れのためにはこのプロセスを踏まねばならない。ある試験法が公定化されるためには、研究・開発された試験法が論文に掲載されるだけでなく、バリデーションが必要となる。この後にバリデーションに関与

していない専門家による第三者評価、行政的受入れのための検討が必要となる。簡単なフローを図1に示すが、このような厳しい基準をクリアして新規試験法は行政的に認められるのである。

試験法の確立のためには、3つの試験法の主要要素が存在する。

- ①作用機構および機能、既存の標的臓器が明確
- ②最小限の対照物質が明確
- ③適性かつ信頼性を確認できるデータの所在

この成立基準を満たした試験法が開発者または関係者からバリデーションセンター(次号で紹介の予定)に提案されてきた場合、一次評価がなされ、バリデーションの必要性が吟味される。承認された場合、予算が付いてバリデーション実行委員会が組織され、バリデーションが開始されるという手順を踏むことになる。

バリデーションで明らかにすべきものをOECD GD34から引用すると<sup>1)</sup>、以下の3点が要素としてあげられる。

- ①施設内、施設間の再現性(信頼性)
- ②データの質
- ③適性(感度、特異度、正確度、陽性の予測性、陰性の予測性、有用性、適用限界など)

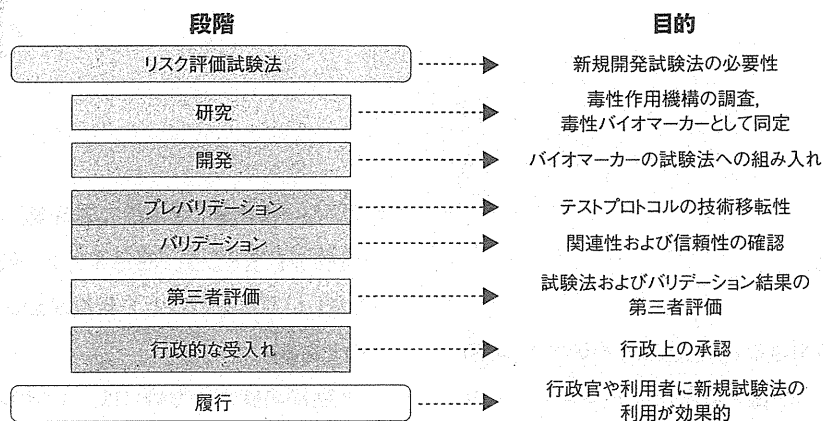


図1 試験法公定化の過程

## 2

### バリデーション

上記の3要素を満たすために行うバリデーションに必要な組織を以下にあげ、これまでの経験をもとに説明を加えたい。

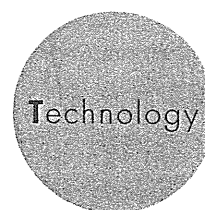
#### (1) バリデーション実行委員会

試験法の専門家、生物統計家、バリデーションの専門家および試験法の開発者により構成される第三者組織である。バリデーション開始にあたり、試験の成立基準を含むプロトコル、試験計画の作成、参加施設の決定や被験物質の選定、コード化を行う。バリデーション終了後には、得られた結果が適正に実施されたことの検証、結果の解析、報告書の作成などを担当する。参加施設の代表は基本的にこの実行委員会のオブザーバーである。下部組織として、被験物質の選定、コード化、配布など被験物質管理グループに、デー

タの処理や評価統計解析グループに任せることが多い。

#### (2) 参加施設

試験法やGLP (Good Laboratory Practice) 基準を把握している研究者がいる、またはGLP対応試験ができる複数の参加施設が必要である(最低3施設)。GLP適合施設における実施が望ましいが、試験をGLP準拠で行えなくとも、GLP基準や内容を把握している施設であれば参加できる。試験法の開発者や試験法に精通した施設をリード施設に認定して、技術講習の講師やプロトコルの作成、トラブル対応を任せることが多い。参加施設の力量を客観的に評価するためには、技術講習会に試験関与者を必ず出席させ、その後トレーニングとして陽性対照物質等を用いた予備試験を行う、そのデータを確認して参加施設の適合条件をクリアできなければ参加を認めない。



### (3) 成立基準を含むプロトコル

信頼性と適性を評価するためには基準が必要である。OECD GD34<sup>1)</sup> や ICCVAM (Interagency coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods)<sup>2)</sup> 基準の中では、以下のように記載されている。

規制のためのリスクを評価する目的でバリデーションする新しい試験方法、あるいは改訂法では以下のバリデーション基準を満たさねばならない。これらの基準はもちろん、方法や目的によりある程度変わりうる。しかし、その目的にあった試験法の評価とデータベースが一致しなければいけない。なぜなら、試験法は異なった目的、組織（規制当局）、物質の分類によりケースバイケースで異なるからである。よって、この基準は、試験法バリデーションの規制の受入れのためには欠くことができないものである。

- ① 科学のおよび規制上の合理性
- ② 指標の生物学的な意義
- ③ 詳細な試験計画
- ④ 再現性（施設内、施設間再現性）
- ⑤ 対照物質の存在
- ⑥ 適性を見極められる情報とデータ
- ⑦ GLP に準拠したデータ
- ⑧ すべてのデータおよび詳細な試験計画が公開され、利用できること

この基準を検証するに最も重要な問題点は、被験物質の数が十分で、種類（参照動物および／またはヒト臨床試験結果が詳細に揃っていること、毒性強度、溶解度、物性および分類）がバラエティに富んでいることである。これが不完全であれば、試験法がどのように高い予測性を有していても評価に値しない。適用限界も明確にならないからであ

る。研究段階では相関が高い試験法は許容されるかもしれないが、高い安全性評価を考慮すれば、偽陽性の存在は軽視できない。適切な被験物質を用いたバリデーションで限りなく偽陰性が少ない試験法、プロトコルを検証することが重要である。よって、バリデーション成功の鍵は被験物質管理グループが握っていると考えてもよい。

### (4) バリデーションの種類

バリデーションも段階があり、施設内および施設間再現性の高いプロトコルを検証するプレバリデーションの後に、予測性を確認するバリデーションが求められる。安定な再現性が得られるまで何度もプロトコルを改定し、プレバリデーションを実施しなければいけない場合もあり、バリデーションに入るまでに多くの時間を費やすこともある。

上記したバリデーションとは予測的なものであり、これから実験を行うものを前提としているが、回顧的なバリデーションとして過去のデータを利用して、例えば、使用動物数を減らすなどの検討もバリデーションの範疇に入る。また、すでにガイドライン化した方法を改良した場合や、類似の生物材料（例えば、皮膚刺激性試験の評価を新たな培養皮膚モデルを用いて行う場合）を用いたバリデーションを実施する場合にキャッチアップ（me-tooともいう）バリデーションという、より小規模なバリデーションで立証する場合も想定される<sup>3)</sup>。