

平成25年9月14日、つくば
勉強会

動物実験代替法の最新情報



小島 肇

JaCVAM, NIHS

内容

1. 動物実験の3Rsを巡る国際的動向
2. 動物実験代替法を巡る国内の動向
 - ・社会的動向
 - ・厚生労働省の対応
3. 動物実験代替法を巡る国際動向
 - ・ICCRとICATM
 - ・OECD TGの動向とJaCVAM
4. 今後の国際的な動向



動物実験の3Rs

(Russel and Burch 1959)

○ Replacement

動物を用いない方法に置き換える

(例) *In vitro* エンドトキシン試験法

○ Reduction

動物の使用数の削減

(例) 固定用量による単回投与試験

○ Refinement

動物使用に伴う苦痛の削減

EU化粧品における動物実験規制

2003/3/11

2004/9/11

2009/3/11

2013/3/11

EU第7次
改正発効

各国国内法施行期限

<Testing ban>
化粧品最終製品：EU域内での即時禁止
成分：
危険物指令Annex V or 化粧品指令Annex IX で
規定された代替法がある場合、即時禁止
(光毒性・皮膚腐食性・経皮吸収性)

<marketing ban>
共同体レベルでバリデートされ採択された代替
法がある動物試験を実施した成分・最終処方を
使用した化粧品の即時販売禁止
(光毒性・皮膚腐食性)

<Testing ban>
成分：EU域内での即時禁止

<marketing ban>
動物試験した成分 / 最終処方を
使用した化粧品の完全販売禁止
*ただし、毒物動態・生殖毒性
・反復投与毒性試験は除外さ
れる

<marketing ban>
動物試験した成分
/ 最終処分を使用
した化粧品の完全
販売禁止

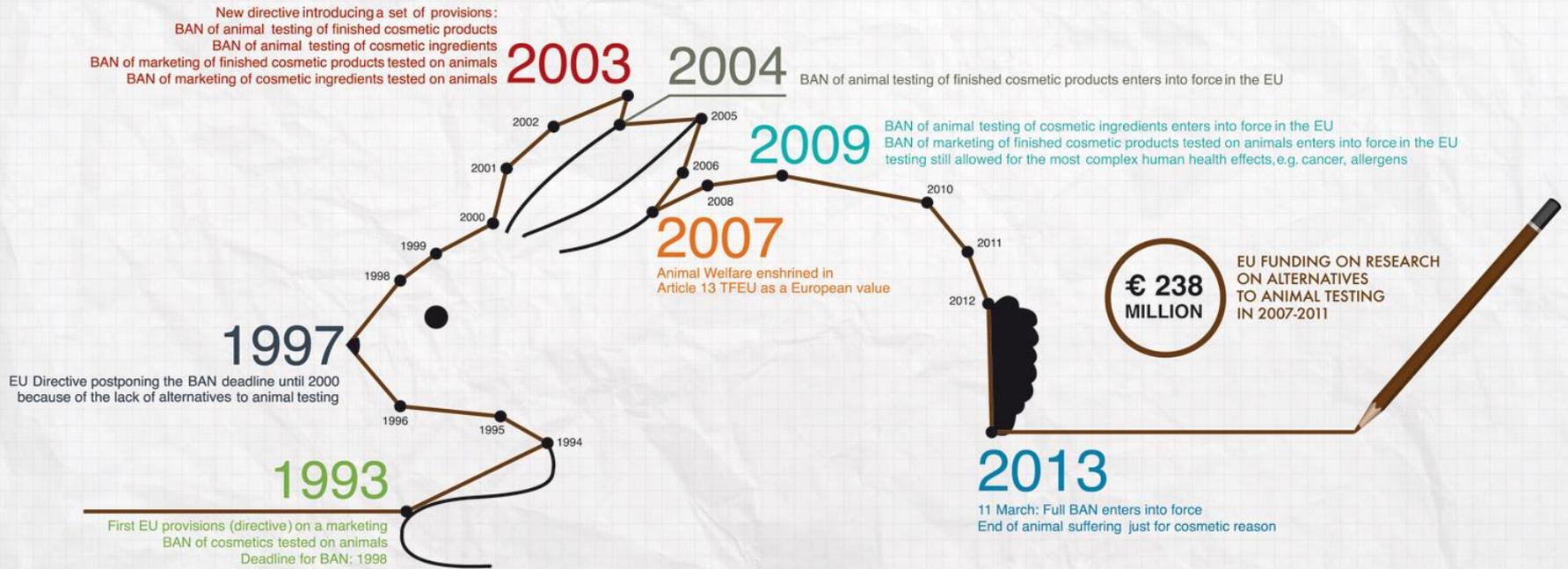
*ただし、毒物動態
・生殖毒性・反復
投与毒性試験の
代替法開発状況
によっては、期
限延長もあり得る

- 国内法施行までは代替法
- のある動物実験でも
- 実施可能

- 代替法ができた時点で即時禁止
- (禁止時期以前に動物実験を実施したものは規制対象外)

CONNECTING THE DOTS FOR ANIMALS:

HISTORY OF THE EU BAN ON ANIMAL TESTING FOR COSMETICS



NEWS EUROPE

[Home](#) | [UK](#) | [Africa](#) | [Asia](#) | [Europe](#) | [Latin America](#) | [Mid-East](#) | [US & Canada](#) | [Business](#) | [Health](#) | [Sci/Environment](#)

11 March 2013 Last updated at 17:23 GMT



EU bans sale of all animal-tested cosmetics

A complete ban on the sale of cosmetics developed through animal testing has taken effect in the EU.

The ban applies to all new cosmetics and their ingredients sold in the EU, regardless of where in the world testing on animals was carried out.

The 27 EU countries have had a ban on such tests in place since 2009. But the EU Commission is now asking the EU's trading partners to do the same.

Animal rights lobbyists said EU officials had "listened to the people".

The **anti-vivisection group BUAV and the European Coalition to End Animal Experiments (ECEAE)** said they had spent more than 20 years

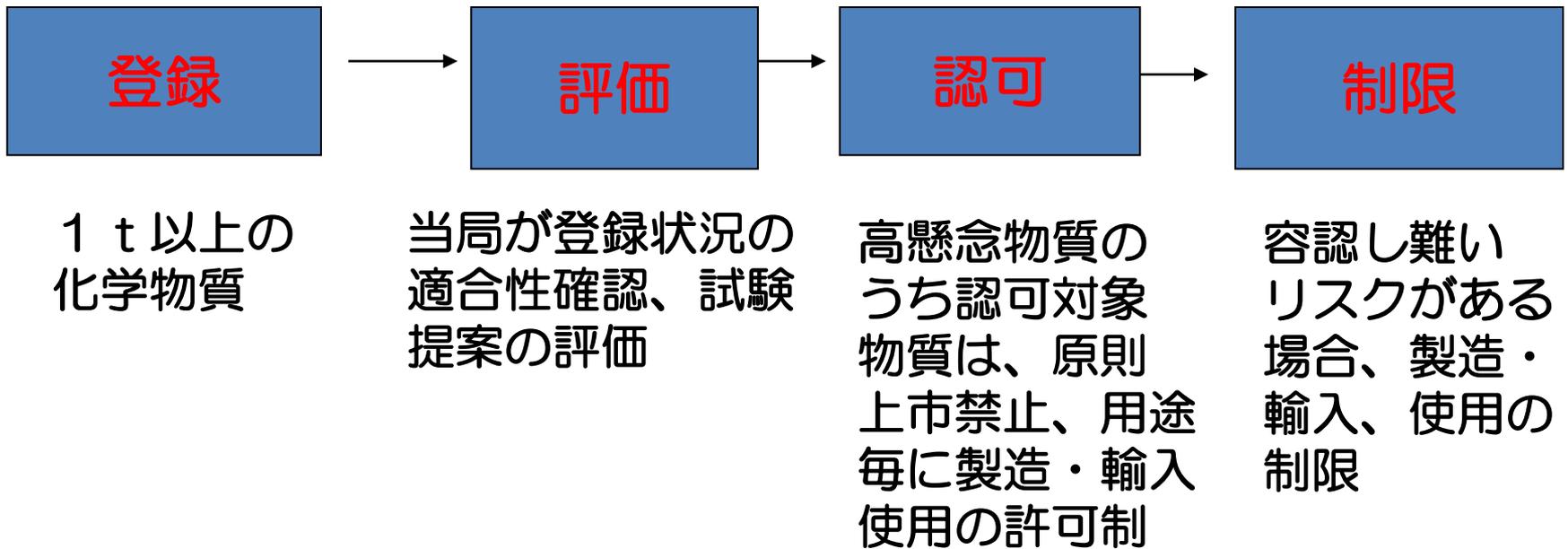


The search for alternatives to animal testing goes on

Related Stories

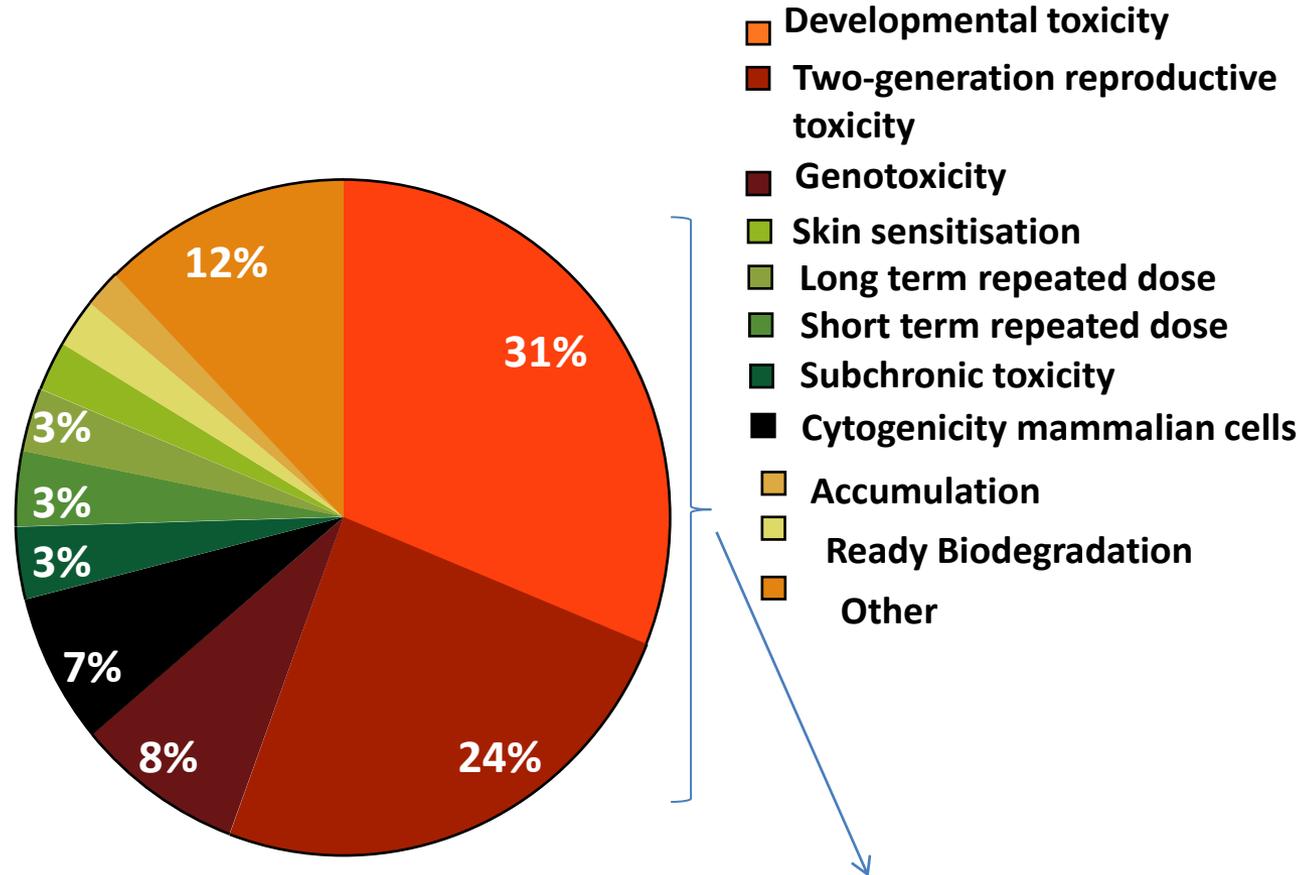
UK retains strict animal test law

REACHの概要



REACH and Estimated testing costs

- EU: 27.000 companies (96% SME), 590 billion € market = **33% of the world market**, 1,7 million workers/employees
- REACH: 30.000 chemicals marketed at >1 ton/year will have to be evaluated
- 86% of toxicological data are missing for existing/'old' chemicals



For reprotox and dev tox the costs may vary between about 700 million EURO and 1100 million EURO

製造／輸入量に応じた有害性情報

番号	試験項目	製造／輸入量(t/年)			
		1-10	10-100	100-1000	1000以上
8.1	皮膚刺激性または皮膚腐食性(in vitro)	○	○	○	○
8.1.1	皮膚刺激性(in vivo)		○	○	○
8.2	眼刺激性(in vitro)	○	○	○	○
8.2.1	眼刺激性(in vivo)		○	○	○
8.3	皮膚感作性	○	○	○	○
8.4	遺伝毒性				
8.4.1	エイムス試験	○	○	○	○
8.4.2	染色体異常試験または小核試験(in vitro)		○	○	○
8.4.3	突然変異試験(in vitro)				
8.5	急性毒性試験				
8.5.1	経口	○	○	○	○
8.5.2	吸入		○	○	○
8.5.3	経皮		○	○	○
8.6	反復投与毒性				
8.6.1	短期(28日間)		○	○	○
8.6.2	短期(90日間)			○	○
8.6.3	長期(1年以上)				○
8.6.4	追加試験				○
8.7	生殖毒性試験				
8.7.1	スクリーニング		○	○	○
8.7.2	出生前発生毒性試験			○	○
8.7.3	二世世代繁殖性試験			○	○

[Arch Toxicol.](#) 2011 May;85(5):367-485. doi: 10.1007/s00204-011-0693-22011
May 1.

Alternative (non-animal) methods for cosmetics testing: current status and future prospects-2010. [Adler S](#), et al.,

In summary, the experts confirmed that it will take at least **another 7-9 years** for the replacement of the current in vivo animal tests used for the safety assessment of **cosmetic ingredients** for **skin sensitisation**.

For **toxicokinetics**, the timeframe was **5-7 years** to develop the models still lacking to predict lung absorption and renal/biliary excretion, and even longer to integrate the methods to fully replace the animal toxicokinetic models.

For the systemic toxicological endpoints of **repeated dose toxicity, carcinogenicity and reproductive toxicity**, the time horizon for full replacement **could not be estimated**.

7次改正の影響

基本概念:

OECDで認証された代替法は即座に安全性試験に用いる。

in vitro 試験法がなくても、**2014年に動物実験を用いた製品は販売できない。**

免責:

2013年までに以下のin vitro 試験法は利用できない

トキシコキネティクス、反復投与毒性、発がん性、皮膚感作性、生殖毒性

問題点

1. EUの化粧品規制により、動物試験は2%しか減らない
2. World Trade Organisation (WTO) = 日本 + 米国に抵触？

反復投与毒性試験代替にかける EU & COLIPA 予算 50 Mio € (6年間)

ヒト安全性評価戦略における経口反復投与毒性試験
研究の計画:

1. ヒト機能細胞モデルの開発
2. 組織モデルの構築
3. 予測指標の開発
4. 生物学的モデルの開発
5. コンピュータモデルの構築
6. データの統合

動物実験代替法を巡る国内の 動向

本当の美しさは、
誰の犠牲も必要としない。

©BUAV



ウサギを救え!

化粧品動物実験反対キャンペーン



資生堂、化粧品・医薬部外品における動物実験の廃止を決定

資生堂は、動物実験代替法(以下、代替法)に基づく安全性保証体系を確立し、これにより2013年4月から開発に着手する化粧品・医薬部外品における社内外での動物実験を廃止します。なお、社会に対して安全性の説明をする必要が生じた場合^{※1}は除きます。本件については、2013年2月28日開催の取締役会において決定しました。

※1 市場にある製品の成分に関して、改めてその安全性を証明する必要が生じ、そのための選択肢が動物実験しかない場合や、一部の国において化粧品の安全性保証に動物実験が不可欠となっている場合。

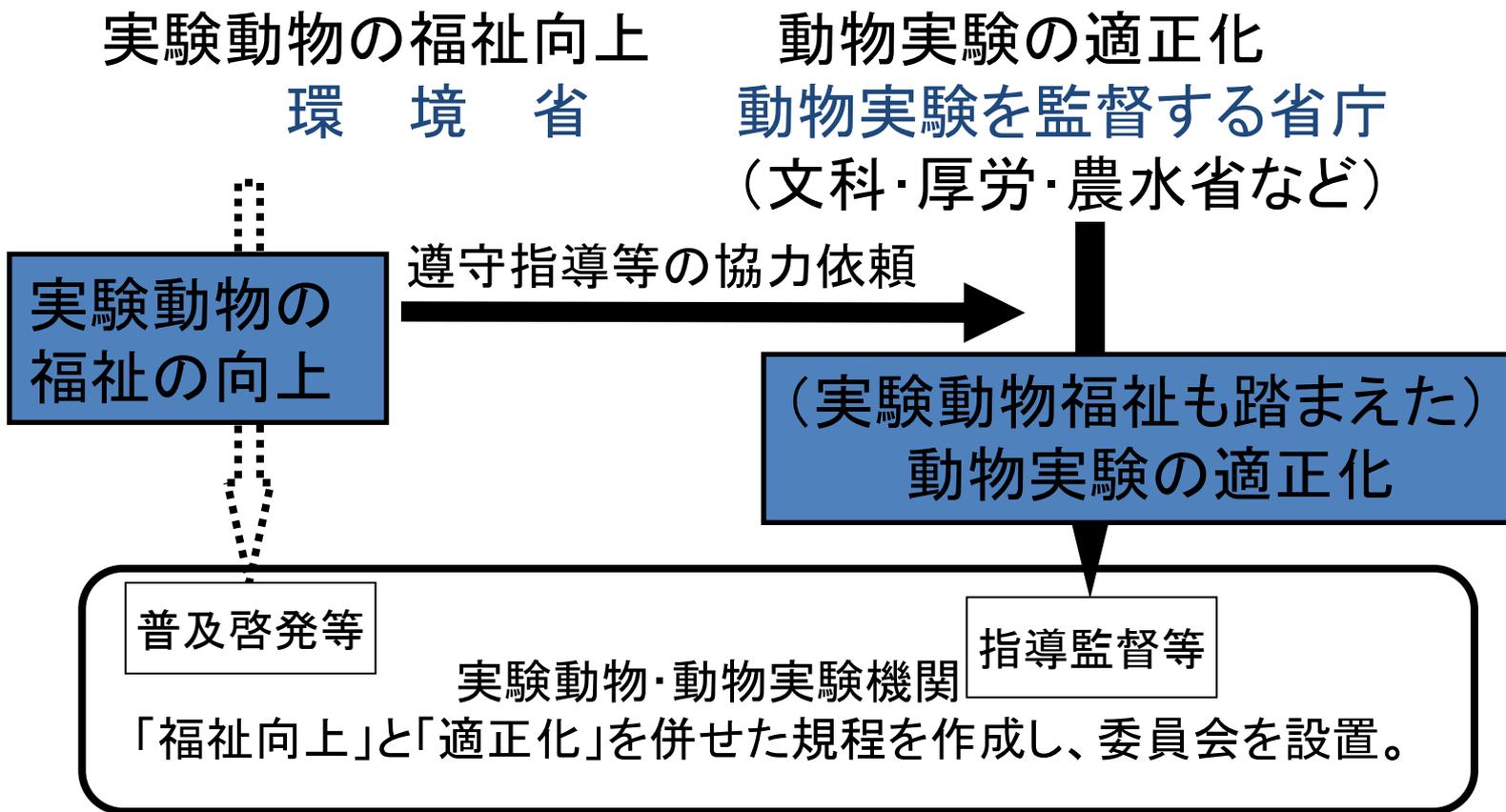
動物実験に対する考え方

**マンダムは、動物実験を行わない方針で、
化粧品開発を進めています。**

マンダムは、生活者の安全の確保を第一に考えて商品を開発しております。製品等の安全性確認は基本的にヒトを用いた試験（パッチテスト、ステインギングテスト等）および動物実験代替法を活用しており、外注委託を含めて動物実験は実施しておりません。今後も動物実験を行わない方針です。

これからもステークホルダーの皆様のご意見を参考にさせていただき、安全で環境にやさしい商品開発を進めてまいります。

「動物の愛護及び管理に関する法律」(動物愛護管理法)が改定され、平成18年6月1日から施行



実験動物における3Rsの徹底

化学物質の審査及び製造等の規制に関する法律の一部を 改正する法律案に対する附帯決議

平成二十一年五月十二日
参議院経済産業委員会

(中略)

十 試験に要する費用・期間の効率化や国際的な動物試験削減の要請にかんがみ、定量的構造活性相関の活用等を含む動物試験の代替法の開発・活用を促進すること。また、国内外の法制度で明記されている動物試験における3 R（代替法活用、使用数削減、苦痛軽減）の原則にかんがみ、不合理な動物実験の重複を避けるなど、3 Rの有効な実施を促進すること。

(以下略)

平成24年の動愛法改定

衆・参議院の付帯決議で、
「実験動物の取扱いに係る法制度の検討に際しては、関係者による自主管理の取組及び関係府省による実態把握の取組を踏まえつつ、国際的な規制の動向や科学的知見に関する情報の収集に努めること。また、関係府省との連携を図りつつ、3R(Replacement:置換え、Reduction:使用数の削減、Refinement:苦痛の軽減)の実効性の強化等により、実験動物の福祉の実現に努めること」が記載された。

厚生労働省の対応

薬事制度概要

医薬品、医薬部外品、化粧品及び医療機器の品質、有効性及び安全性の確保のために必要な規制を行うとともに、医療上特にその必要性が高い医薬品及び医療機器の研究開発の促進のために必要な措置を講ずることにより、保健衛生の向上を図ることを目的とする。(薬事法第1条)

開発・治験

- 臨床試験基準

承認審査

- 独立行政法人医薬品医療機器総合機構による審査
- 医薬品等の品質、有効性及び安全性の確認

製造規制

- 製造販売業許可
- 製造管理基準・安全管理基準

販売規制

- 医薬品販売業許可
- 薬局・一般販売業・薬種商・配置販売業等

市販後安全対策

- 副作用(医薬品)、不具合(医療機器)情報の収集
- 安全対策措置(添付文書改訂等)

監視指導

- 無承認・無許可医薬品・医療機器等の監視指導等
- 不良医薬品・医療機器等の取締り

副作用被害救済

- 医薬品副作用被害救済制度
- 特定救済事業(C型肝炎訴訟等)

医薬品等の分類

医薬品

医療用医薬品

新医薬品

(医師の処方が必要)
約12,000品目

後発医薬品

一般用医薬品

(薬局等で直接購入可能)
約13,000品目

医薬部外品

(薬用歯みがき、浴用剤等)

約96,000品目

化粧品

(口紅、シャンプー等)

数万品目？(大手1社で6000品目以上)

医療機器

(ペースメーカー、MRI、メス等)

約30万品目？



「医薬品」「医薬部外品」「化粧品」の定義

【医薬品】

この法律で「医薬品」とは、次に掲げる物をいう。

- ① **日本薬局方に**収められている物
- ② **人又は動物の疾病の診断、治療又は予防に使用されることが目的とされている物**であって、器具器械、歯科材料、医療器 用品及び衛生用品でないもの（医薬部外品を除く。）
- ③ **人又は動物の身体の構造又は機能に影響を及ぼすことが目的とされている物**であって、器具器械類でないもの（医薬部外品及び化粧品を除く。）

【医薬部外品】

この法律で「医薬部外品」とは、次に掲げる物であって人体に対する作用が緩和なものをいう。

- ① 次のイからハまでに掲げる目的のために使用される物であって機械器具等でないもの
 - イ 吐きけその他の不快感又は口臭若しくは体臭の防止
 - ロ あせも、ただれ等の防止
 - ハ 脱毛の防止、育毛又は除毛
- ② 人又は動物の保健のためにするねずみ、はえ、蚊、のみその他これらに類する生物の防除の目的のために使用される 物であつて機械器具等でないもの
- ③ 前項第二号又は第三号に規定する目的のために使用される物(前二号に掲げる物を除く。)のうち、厚生労働大臣が指定するもの

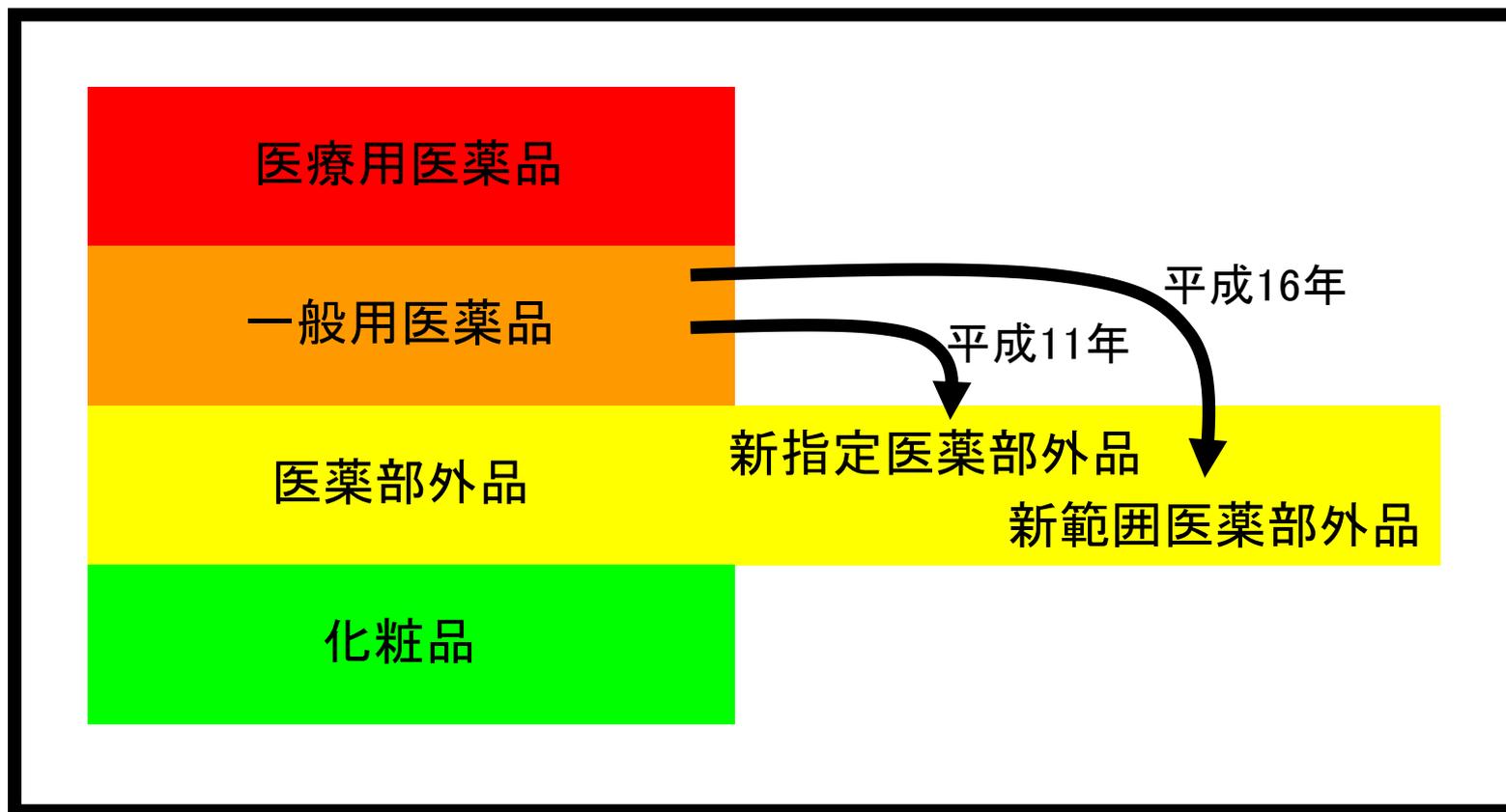
【化粧品】

この法律で「化粧品」とは、**人の身体を清潔にし、美化し、魅力を増し、容貌を変え、または皮膚若しくは毛髪をすこやかに保つために**、身体に塗擦、散布その他これらに類似する方法で使用されることが目的とされているもので、人体に対する作用が緩和なもの。

(医薬品用途目的、医薬部外品を除く。)

薬事法における医薬部・医薬部外品の 位置づけ

薬事法による規制



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Q&A

1. 医薬部外品の製造販売承認申請について

(1) 安全性に関する資料全般について

Q1: どのような毒性試験法に従えばよいか。

A1:

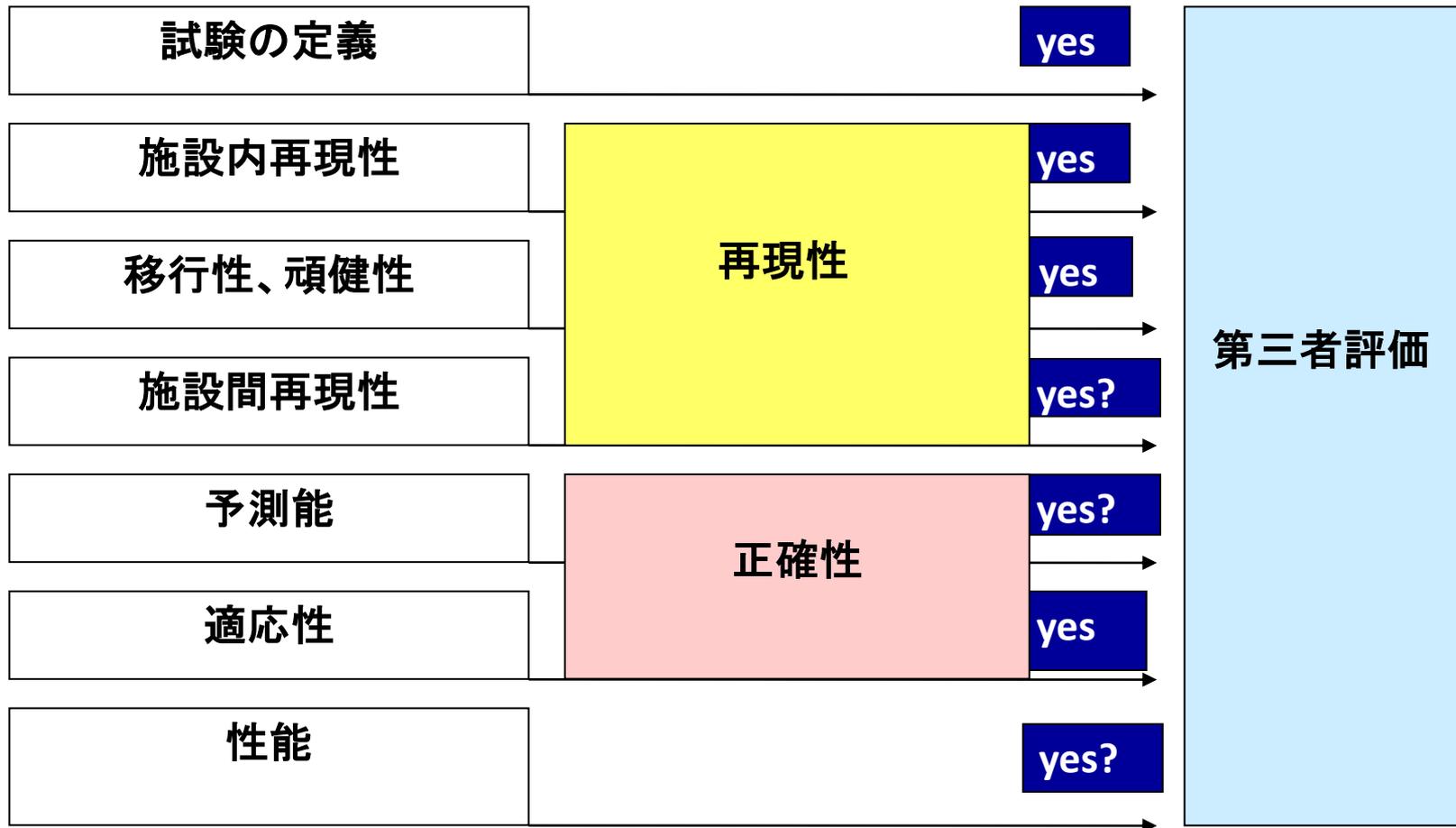
原則として、以下の通知やOECDガイドライン等の公的に確立された試験法に従って実施すること。また、動物実験の実施に際しては、「厚生労働省の所管する実施機関における動物実験等の実施に関する基本指針について」(平成18年6月1日科発第0601001号)その他の動物実験等に関する法令等の規定を遵守すること。

- ・ **医薬品の製造販売承認申請に必要な毒性試験のガイドラインについて**
(平成元年9月11日、薬審1第24号: 以下「医薬品毒性試験ガイドライン」という。)
- ・ 医薬品の遺伝毒性試験に関するガイドラインについて
(平成11年11月1日、医薬審第1604号: 以下、「遺伝毒性試験ガイドライン」という)
- ・ 医薬品のがん原性試験に関するガイドラインについて
(平成11年11月1日、医薬審第1607号)

これまでの代替法に関する通知

医薬部外品の製造販売承認申請等に添付する資料については、平成18年7月19日付医薬食品局審査管理課事務連絡「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」において、動物実験代替試験法等の利用に関して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に従った試験成績であれば、当該品目の申請資料として差し支えない旨を示しているところです。

バリデーションの検討項目*

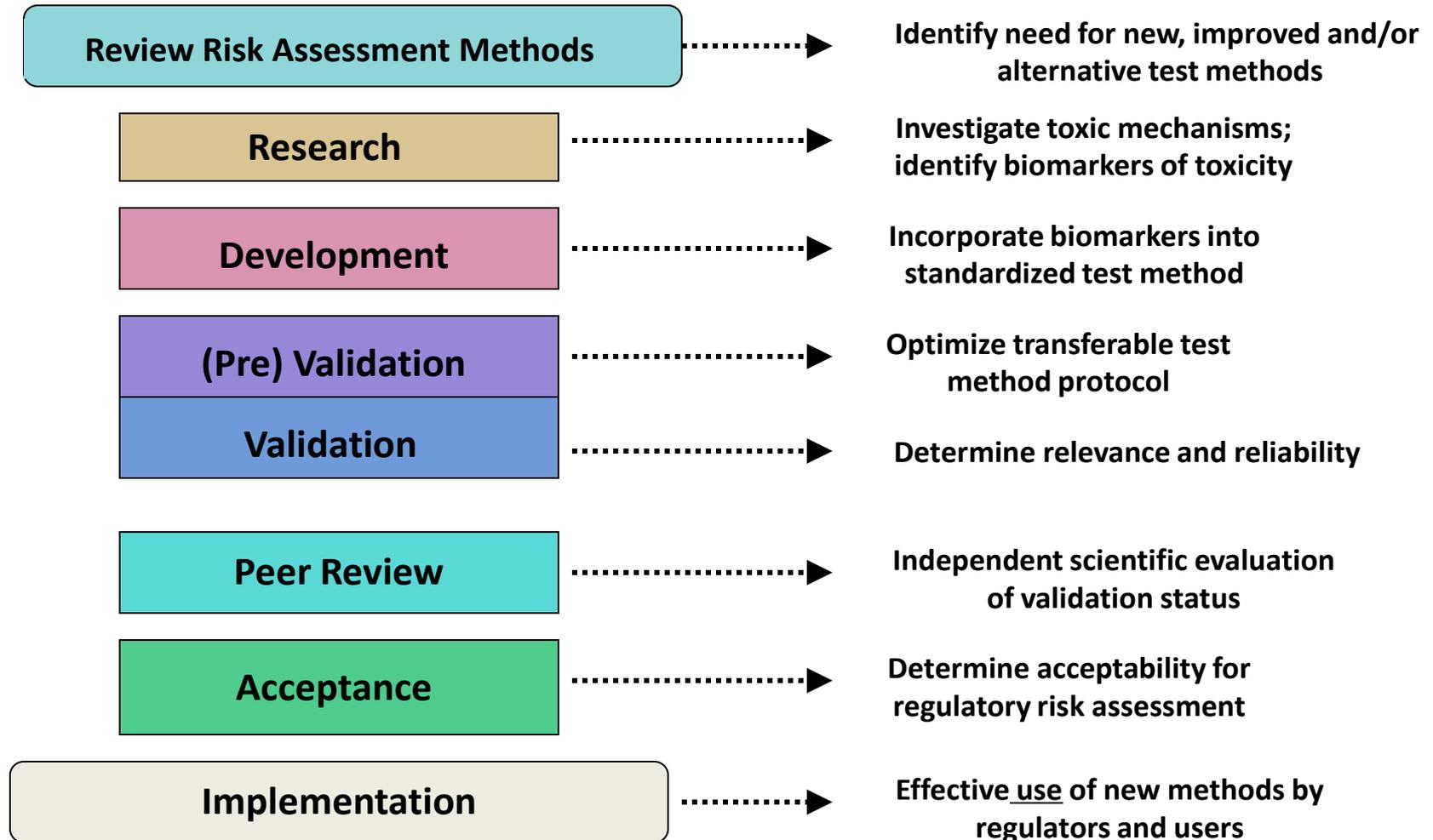


*from Thomas Hartung, ECVAM, 2003

Test Method Evolution and Translation Process: Concept to Implementation

Stage

Objective



JaCVAMの歴史

2005年11月 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 新規試験法評価室内に臨時の組織が設立

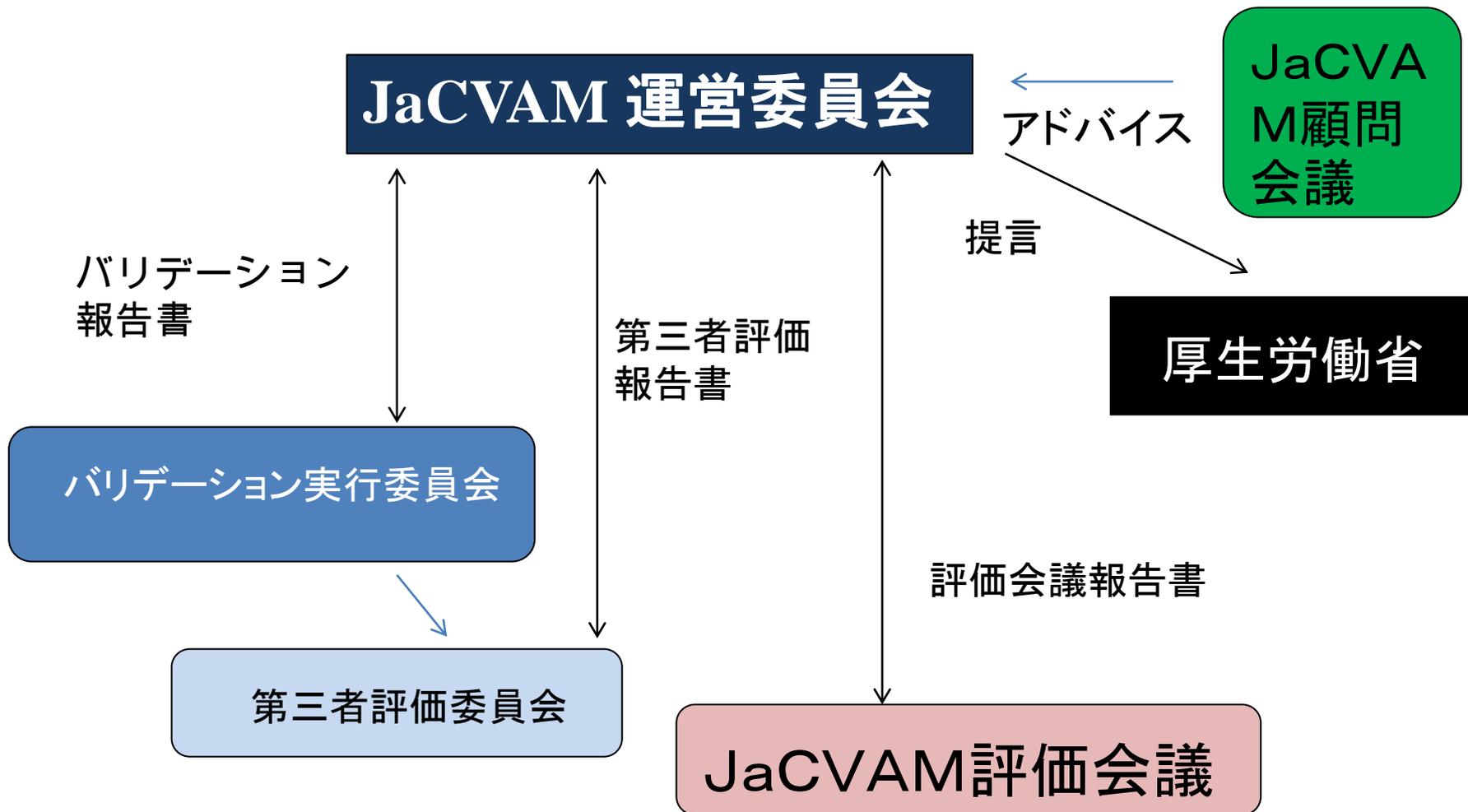
2011年4月 正式な組織に昇格

JaCVAMの目的

1. 国際的な協力の下、日本で開発された方法をOECDのガイドラインとする。
2. 主に、国際的な協力の下、バリデーションや第三者評価を通じて評価された代替法について、行政的受入れの適否及びその適用可能な範囲を明確にし、公表する。



JaCVAM組織図



JaCVAM顧問会議

1	岩井 恒彦	日本化粧品工業連合会
2	吉田 武美	日本毒性学会
3	秋田 正治	日本動物実験代替法学会
4	中村 和市	日本製薬工業協会
5	佐藤 岳幸	厚生労働省 医薬食品局
6	松永 佳世子	日本皮膚アレルギー・接触皮膚炎学会
7	谷川 学	日本実験動物学会
8	山崎 恵子	動物との共生を考える連絡会
9	庄野 文章	一般社団法人 日本化学工業協会
10	及川 信一	経済産業省 製造産業局
11	山崎 邦彦	環境省 環境保健部
12	朝倉 健司	農林水産省 消費・安全局農産安全管理課

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

医薬部外品の承認申請資料の作成においては、JaCVAMのホームページに掲載されている情報も参考の上、**適切な資料を作成し、また化粧品のポジティブリスト改正要望等においても活用が図られるよう、**貴管下関係業者に対し周知をお願いします。

事務連絡
平成24年4月26日

各都道府県衛生主管部（局）
薬務主管課 御中

厚生労働省医薬食品局審査管理課

皮膚感作性試験代替法及び光毒性試験代替法を化粧品・医薬部外品の
安全性評価に活用するためのガイドランスについて

今般、皮膚感作性試験代替法及び光毒性試験代替法について、その利用促進を図るため、平成23年度レギュラトリーサイエンス総合研究事業（研究代表者 小島肇）において、それぞれ化粧品・医薬部外品の安全性評価に活用するためのガイドランスを作成したので、貴管下関係業者に対して周知願います。

なお、その他の代替法に関するガイドランスについては、順次、作成する予定です。

（添付資料）

- ① 皮膚感作性試験代替法としての LLNA を化粧品・医薬部外品の安全性評価に活用するためのガイドランス
- ② 光毒性試験代替法としての *in vitro* 3T3 NRU 光毒性試験を化粧品・医薬部外品の安全性評価に活用するためのガイドランス

事務連絡
平成25年5月30日

各都道府県衛生主管部（局）
薬務主管課 御中

厚生労働省医薬食品局審査管理課

皮膚感作性試験代替法（LLNA：DA、LLNA：BrdU-ELISA）を化粧品・医薬部外品の
安全性評価に活用するためのガイドランスについて

今般、皮膚感作性試験代替法（LLNA：DA、LLNA：BrdU-ELISA）について、その利用促進を図るため、平成24年度レギュラトリーサイエンス総合研究事業（研究代表者 小島肇）において、それぞれ化粧品・医薬部外品の安全性評価に活用するためのガイドランスを作成したので、貴管下関係業者に対して周知願います。

なお、その他の代替法に関するガイドランスについては、順次、作成する予定です。

（添付資料）

- ① 皮膚感作性試験代替法としての LLNA：DA を化粧品・医薬部外品の安全性評価に活用するためのガイドランス
- ② 皮膚感作性試験代替法としての LLNA：BrdU-ELISA を化粧品・医薬部外品の安全性評価に活用するためのガイドランス

動物実験代替法を巡る国際動向

ICH安全性試験ガイドライン

2006年より、見直し

動物実験数削減の可能性もテーマの一つ

各国・地域における規制上の不調和

公衆衛生上の問題

科学技術の進展への対応

**ICCR (International Cooperation on Cosmetics
Regulations:化粧品協力規制国際会議)と
ICATM (International Cooperation on
Alternative Test Methods:代替試験法協力国
際会議)**

ICCRの動向1

化粧品規制協力国際会議について

平成19年10月11日

厚生労働省、米国医薬食品庁(FDA)、カナダ厚生省、欧州委員会企業産業総局が2007年9月26～28日にブリュッセルで化粧品に関する規制を議論するために会議を行った。

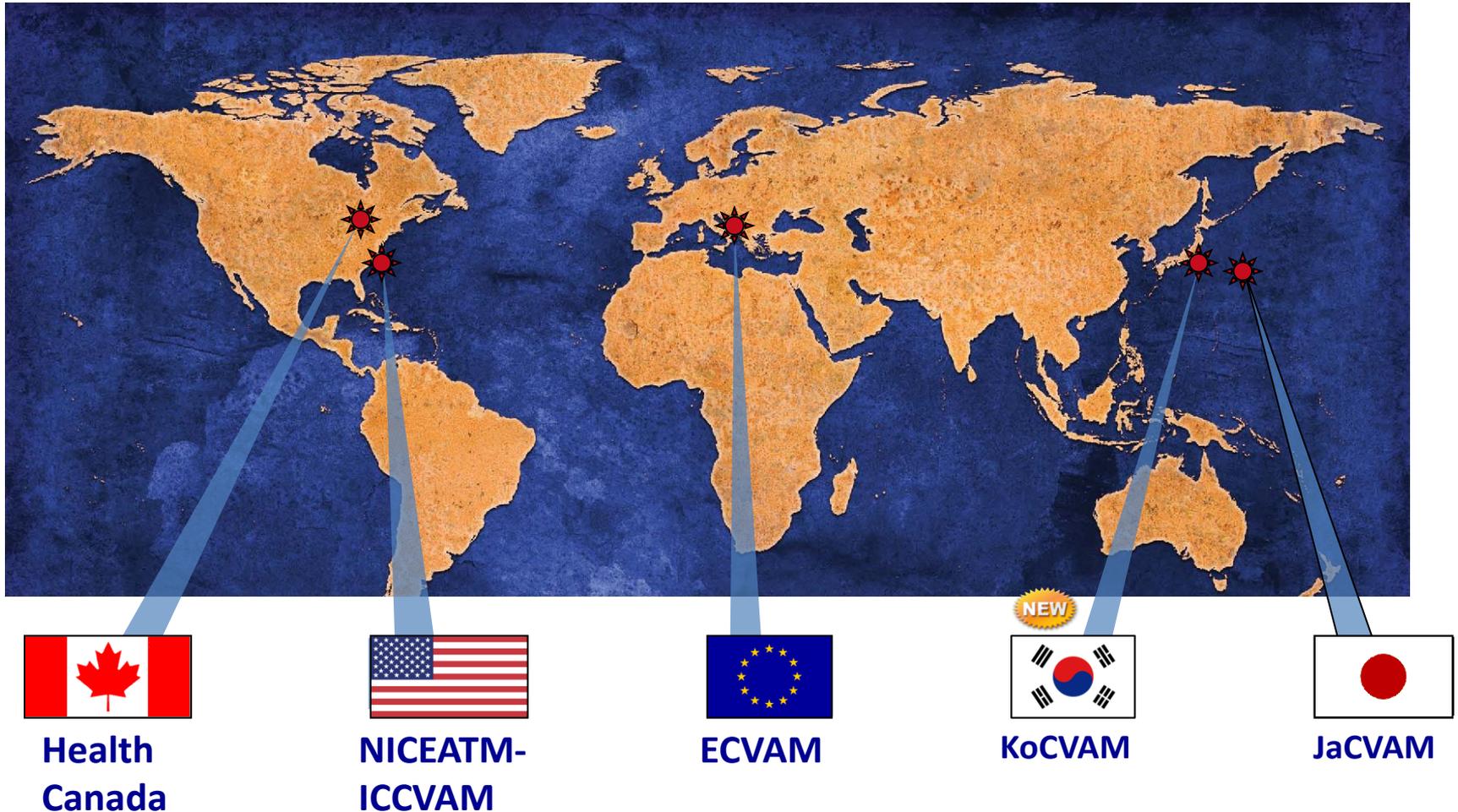
これは「化粧品規制協力国際会議」(International Cooperation on Cosmetics Regulations, ICCR)の最初の会議であり、この会議は化粧品の安全性を国際協力を通じて確保するための情報交換の場となるものである。

この会議では、以下の議題が話し合われた。

- 適正製造規範(GMP)
- 化粧品国際命名法(INCI nomenclature)の使用
- ナノテクノロジー
- 市場監視システムと協力
- **化粧品成分の安全性評価と動物代替試験法**

ICATM cooperation

ICATM is a **voluntary** international cooperation of national organizations: Canada, the European Union, Japan, South Korea, and the United States.



ICATMの協力内容

3つの重要な領域における協力の枠組みを以下に示す:

- 1) バリデーション研究
- 2) 科学的妥当性についての第三者評価
- 3) 代替法における公式な試験法勧告の推奨



OECD TGの動向とJaCVAM

APPLY INTEGRATED APPROACHES TO TESTING AND ASSESSMENT

All of the work on alternative methods is undertaken at the OECD with the objective of contributing to more integrated approaches to testing and assessment. In practice, integrated approaches, which take into account the tools outlined above, are used in the OECD Existing Chemicals Programme which generates internationally agreed initial hazard assessments of chemicals.

This practical application of integrated approaches improves their regulatory acceptance and facilitates their implementation into national and regional chemical assessment schemes in OECD member countries.

AVOID DUPLICATION OF TESTING

The OECD **Mutual Acceptance of Data** (MAD) framework has had a major impact on testing practices. MAD guarantees that data generated in the testing of chemicals in an OECD member country, or adhering non-member country, in accordance with OECD Test Guidelines and OECD Principles of Good Laboratory Practice shall be accepted in other member or adhering countries for purposes of chemical assessment and other uses relating to the protection of man and the environment. This proactive framework saves thousands of animals every year and its impact increases as non-OECD economies join the MAD system.

Furthermore, the OECD has developed the **Global Portal to Information on Chemical Substances** (eChemPortal). eChemPortal offers free public access to information on properties of chemicals through a simultaneous search of multiple databases, thereby improving the access to existing test results and reducing the risk of unnecessary testing.

WHERE CAN I FIND OECD TOOLS RELATED TO CHEMICAL SAFETY AND ANIMAL WELFARE ?

(Q)SARs, Grouping of Chemicals and the (Q)SAR Application Toolbox

www.oecd.org/env/existingchemicals/qsar

Test Guidelines, *in vitro* test methods, molecular screening and toxicogenomics

www.oecd.org/env/testguidelines

Integrated Approaches to Testing and Assessment

www.oecd.org/env/existingchemicals

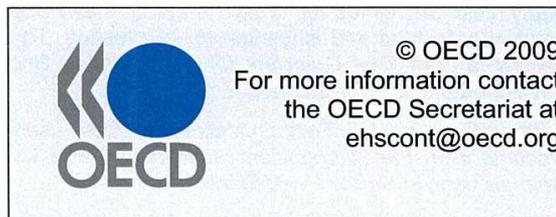
Mutual Acceptance of Data

www.oecd.org/env/glp

Global Portal to Information on Chemical Substances

www.oecd.org/ehs/eChemPortal

© Photos
Getty Images, 2005
KaYann-Fotolia.com



Chemical Safety and Animal Welfare



Progress made
at the OECD



www.oecd.org/env/ehs

代替法が
関与した
OECDのTG
(2011)

分類	試験法
皮膚腐食性試験	CORROSITEX Skin Corrosivity Test
	EpiSkin Skin Corrosivity Test
	EpiDerm Skin Corrosivity Test
	Rat TER Skin Corrosivity Test
皮膚刺激性試験	In vitro reconstructed human epidermis (RhE) test methods, EpiDerm, EPISKIN, SkinEthic
光毒性試験	3T3 NRU Phototoxicity Test
眼刺激性試験	Bovine Corneal Opacity and Permeability (BCOP) Test Method
	Isolated Chicken Eye (ICE) Test Method
皮膚感作性試験	Updated Murine local lymph node assay (LLNA) for skin sensitization (20% 動物数削減)
	Nonradioactive LLNA protocol (LLNA: BrdU-ELISA)
	Nonradioactive LLNA protocol, LLNA:DA
単回投与毒性試験	Up and Down Procedure (UDP)
	Fixed Dose Procedure (FDP)
	Acute Toxic Class Method (ATC)
	Acute inhalation toxicity
	Inhalation toxicity - acute toxic class method
内分泌かく乱スクリーニング	Stably transfected human estrogen receptor- α transcriptional activation assay for detection of estrogenic agonist-activity of chemicals
	H295R Steroidogenesis Assay
遺伝毒性試験	In vitro micronucleus test
	Transgenic rodent in vivo gene mutation assays.
経皮吸収試験	Skin Absorption: In Vitro Method

2012および2013年に成立したOECD TG

Method	Lead Country	International acceptance
BG1Luc Estrogen Receptor Transactivation Test Method for Identifying Estrogen Receptor Agonists and Antagonists	USA	OECD TG 457 (2012)
Performance-Based Test Guideline for Stably Transfected Transactivation In Vitro Assays to Detect Estrogen Receptor Agonists Test	USA & Japan	OECD updated TG 455 (2012)
Fluorescein Leakage (FL) test method	EU	OECD TG 460 (2012)
Use of anesthetics, analgesics, and humane endpoints for routine use in the TG 405	USA	OECD updated TG 405 (2012)
<i>In vitro</i> Skin Corrosion Test Method	EU	OECD TG updated 431 (2013)
<i>In vitro</i> Skin irritation Testing including LabCyte EPI-Model	Japan	OECD TG updated 439 (2013)
Bovine Corneal Opacity and Permeability (BCOP) Test Method	USA & EU	OECD TG updated 437 (2013)
Isolated Chicken Eye (ICE) Test Method	Netherland	OECD TG updated 438 (2013)

JaCVAMが成立に関与したOECDテストガイドライン

JaCVAMが主導

- **No. 442a: Skin Sensitisation: Local Lymph Node Assay Non-RI method (LLNA:DA)**
- **No. 442b: Skin Sensitisation: Local Lymph Node Assay Non-RI method (LLNA:BrdU-ELISA)**
- **No.455:The Stable Transfected Human Estrogen Receptor-alpha Transcriptional Activation Assay for Detection of Estrogenic Agonist-Activity of Chemicals**
- **TG439 : Skin irritation assay using LabCyte EPI-MODEL24**

JaCVAMが支援

- **No. 429: Updated Skin Sensitisation: Local Lymph Node Assay**
- **No. 437 Bovine Corneal Opacity and permeability Test Methods for Identifying Ocular Corrosives and Severe Irritants**
- **No. 438 Isolated Chicken Eye Test Methods for Identifying Ocular Corrosives and Severe Irritants**
- **No. 439 In vitro skin Irritation assay**
- **No.457 BG1 Luc ER TA Assay for Detection of Estrogenic Agonist- and antagonist Activity of Chemicals**
- **NO.460 Fluorescein leakage (FL) Test Methods for Identifying Ocular Corrosives and Severe Irritants**

OECD/OCDE

437

Adopted:
26 July 2013

OECD GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS

Bovine Corneal Opacity and Permeability Test Method for Identifying i) Chemicals Inducing Serious Eye Damage and ii) Chemicals Not Requiring Classification for Eye Irritation or Serious Eye Damage

Update on JaCVAM (15.June / 2009 updated)

Classification	Test name	Validation study	Peer review	Regulatory acceptance	Recommendation to government	OECD	Collaboration
01	(1)Reconstructed human tissue test made in Japan: Vitrolife-Skin	Feb-09 	Jun-08 	Jun-08 	Aug-08 	Guideline No.431 	JSAAE
02	(1)3T3-NRU	BfR 	Nov-04 			Guideline No.432 	
	(2)Yeast growth inhibition phototoxicity assay and the red blood cell photohemolysis assay	Jan-09 	May-09 	on going 			JSAAE
03	(1)LLNA-DA	Jun-07 	Feb-08 	Oct-08 	Nov-08 		JSAAE
	(2)LLNA-BrdU	Aug-08 	Feb-09 	on going 			JSAAE
	(3)h-CLAT	start in 2009 					
	(4)LLNA						
	(5)rLLNA	ECVAM, ICCVAM 	start in 2009 				ICCVAM
04	(1)Reconstructed human tissue test	ECVAMで 	Nov-08 	on going 		Draft test guideline 	ECVAM
	(2)Reconstructed human tissue test made in Japan	May-09 					JSAAE
05	(1)3T3-NRU	ECVAM					

新規試験法提案書

平成 25 年 1 月 20 日

No. 2012-04

皮膚感作性試験代替法 Local Lymph Node Assay (LLNA): BrdU-ELISA の判定基準の変更に関する提案

平成 24 年 10 月 1 日に東京、国立医薬品食品衛生研究所にて開催された新規試験法評価会議（通称：JaCVAM 評価会議）において以下の提案がなされた。

提案内容：皮膚外用剤として用いる医薬品、医療機器、化粧品、皮膚適用の医薬部外品、農薬等に含まれる物質又はそれらの製品の皮膚感作性を予測する皮膚感作性試験代替法 Local Lymph Node Assay (LLNA): BrdU-ELISA は、RI を使用せずとも従来試験法と同等の結果が得られることから、行政上利用することは可能である。

この提案書は、米国 Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods (ICCVAM) LLNA: BrdU-ELISA Evaluation Report (2010)、LLNA: BrdU-ELISA の JaCVAM 評価報告 (2011) および OECD Test Guideline (TG) 442B をもとに、皮膚感作性試験代替法評価委員会によりまとめられた文書を用いて JaCVAM 評価会議が評価および検討した結果、その有用性が確認されたことから作成された。

以上の理由により、行政当局の安全性評価方法として「皮膚感作性試験代替法 LLNA: BrdU-ELISA の判定基準の変更」に関する提案をするものである。

吉田武美 

JaCVAM 評価会議 議長

西川秋佳 

JaCVAM 運営委員会 委員長

JaCVAM statement on the Local Lymph Node Assay (LLNA): BrdU-ELISA for skin sensitization assay

At the meeting concerning the above method, held on 1 October 2012 at the National Institute of Health Sciences (NIHS), Tokyo, Japan, the members of the Japanese Center for the Validation of Alternative Methods (JaCVAM) Regulatory Acceptance Board unanimously endorsed the following statement:

The LLNA: BrdU-ELISA can be used to identify substances as potential skin sensitizers or nonsensitizers as well as LLNA for regulatory use, without Radio-isotope.

Following the review of the results of the ICCVAM (Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods, USA) Evaluation Report, JaCVAM peer review panel reports, and OECD (Organisation for Economic Co-operation and Development) Test Guideline revised No. 442B, it is concluded that the LLNA: BrdU-ELISA for skin sensitization assay is clearly beneficial.

The JaCVAM Regulatory Acceptance Board has been regularly kept informed of the progress of the study, and this endorsement is based on an assessment of various documents, including, in particular, the evaluation report prepared by the JaCVAM ad hoc peer review panel for skin sensitization assay.



Takemi Yoshida
Chairperson
JaCVAM Regulatory Acceptance Board



Akiyoshi Nishikawa
Chairperson
JaCVAM Steering Committee

20 January, 2013

JaCVAM評価会議が認証してきた試験法

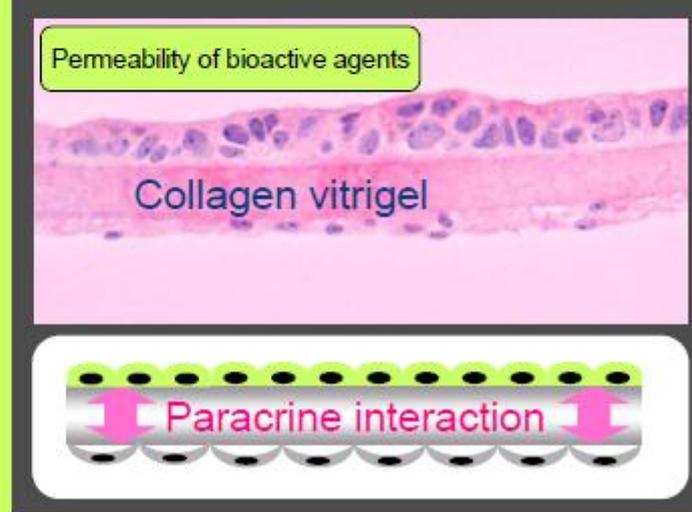
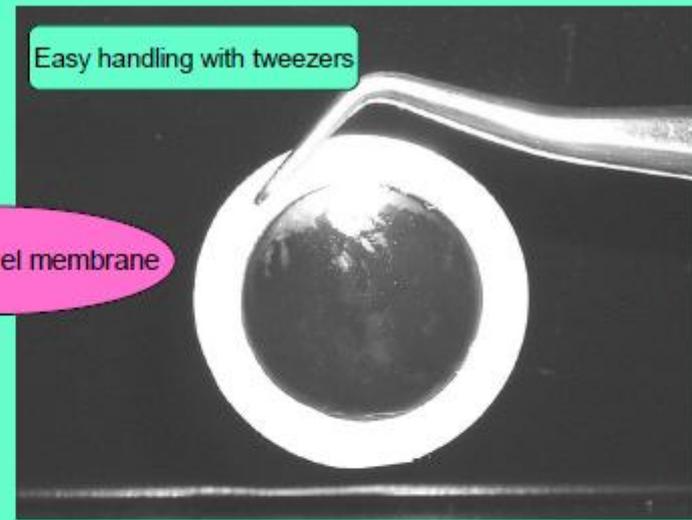
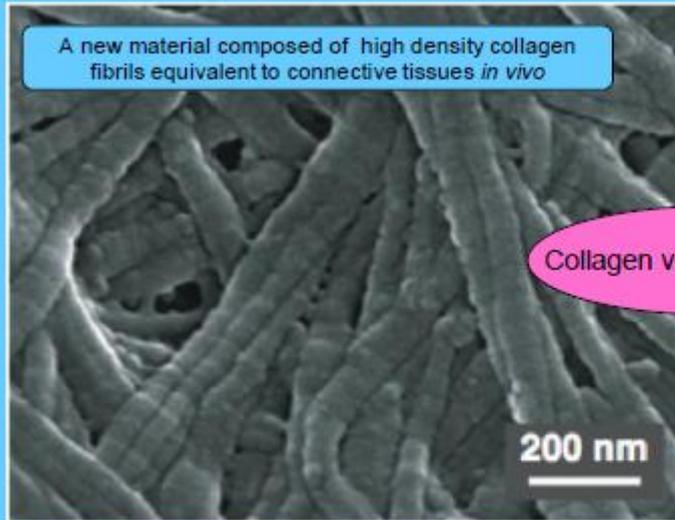
No.	Test Method
1	<i>In vitro</i> skin corrosion testing: Vitrolife-Skin, EpiDerm
2	The Bovine Corneal Opacity and Permeability (BCOP) Test Method for Identifying Ocular Corrosives and Severe Irritants
3	The Isolated Chicken Eye (ICE) for Identifying Ocular Corrosives and Severe Irritants
4	Skin sensitization assay, LLNA : DA
5	Skin sensitization assay, LLNA : BrdU-ELISA
6	<i>In vitro</i> skin irritation testing: EPISKIN
7	Utilization of cytotoxicity test for acute oral toxicity tetsting
8	Skin sensitization assay, rLLNA
9	<i>In vitro</i> skin irritation testing: EpiDerm, Skinthics
10	Fluorescein leakage (FL) Test Methods for Identifying Ocular Corrosives and Severe Irritants

実施中のバリデーションや第三者評価研究

- 1) 皮膚感作性試験 IL-8 Lucアッセイ(経産省プロジェクト)
- 2) Stable transfected transcriptional activation (STTA) アンタゴニストアッセイ 内分泌かく乱スクリーニング(厚労省・経産省プロジェクト)
- 3) SIRC-CVS アッセイ 眼刺激性試験
- 4) STTA法 アンドロジェン(経産省プロジェクト)
- 5) 生殖毒性試験 Hand-1 Luc アッセイ(経産省プロジェクト)
- 6) **Vitrigel(農林水産省プロジェクト)**

- 7) 遺伝毒性試験 *in vivo* コメットアッセイ(OECD)
- 8) 光毒性試験 ROSアッセイ (ICH S10)
- 9) 形質転換試験 Bhasアッセイ(OECD)

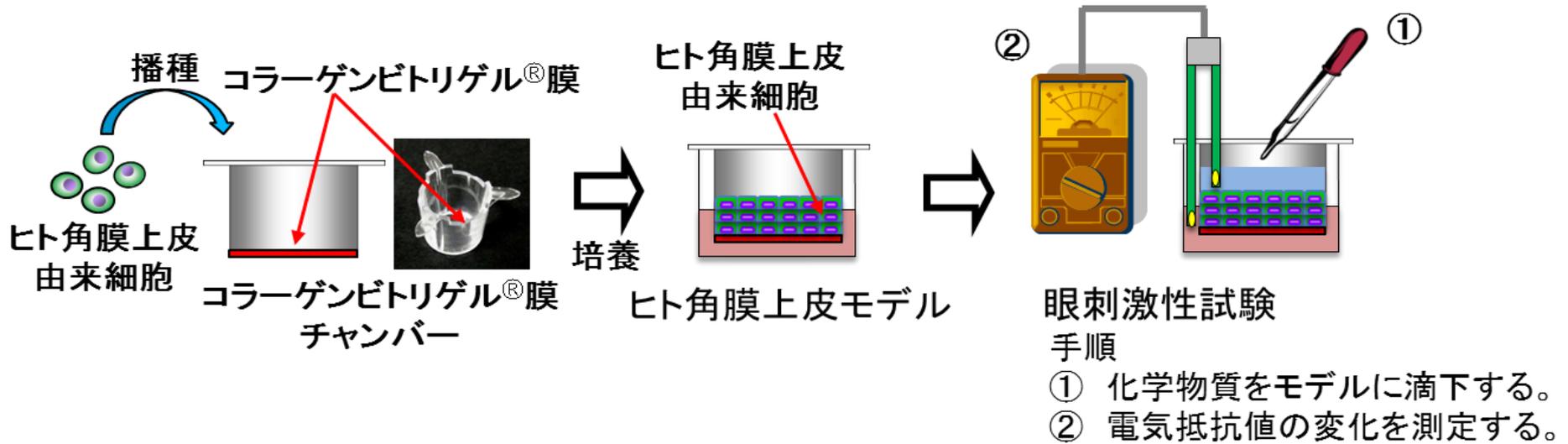
Background- 1 : Collagen vitrigel membrane (CVM)



Takezawa T, *et al.*, Cell Transplantation, 13: 463-473, 2004
Takezawa T, *et al.*, Tissue Engineering, 13: 1357-1366, 2007

Takezawa T, *et al.*, Cell Tissues Organs, 185: 237-4241, 2007
Takezawa T, *et al.*, Yakugaku Zasshi, 130: 565-574, 2010

コラーゲンビトリゲル®膜チャンバーを用いた眼刺激性試験法



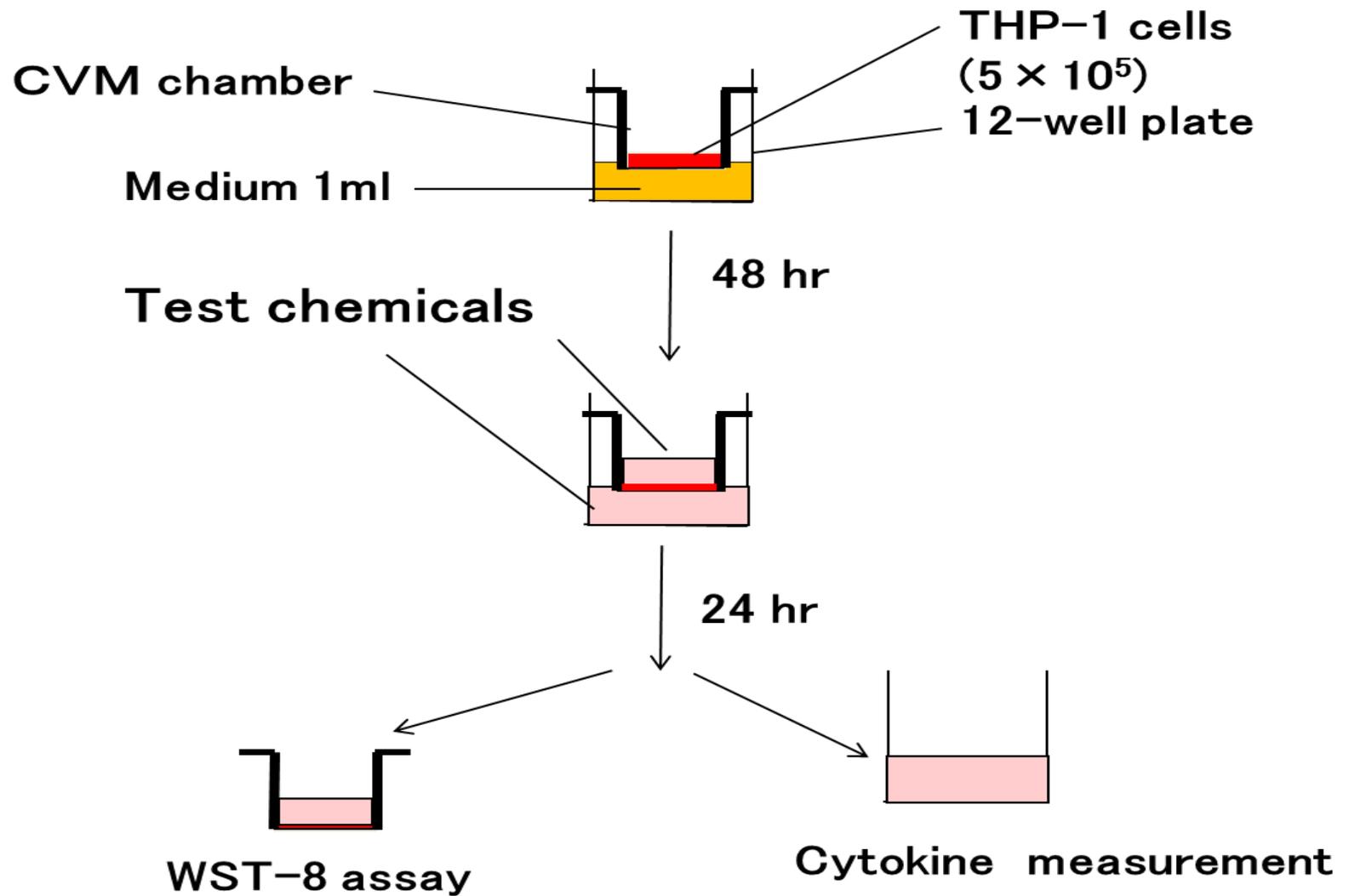


Fig.1 Vitrigel-SST model

毒性試験へのカイコの利用

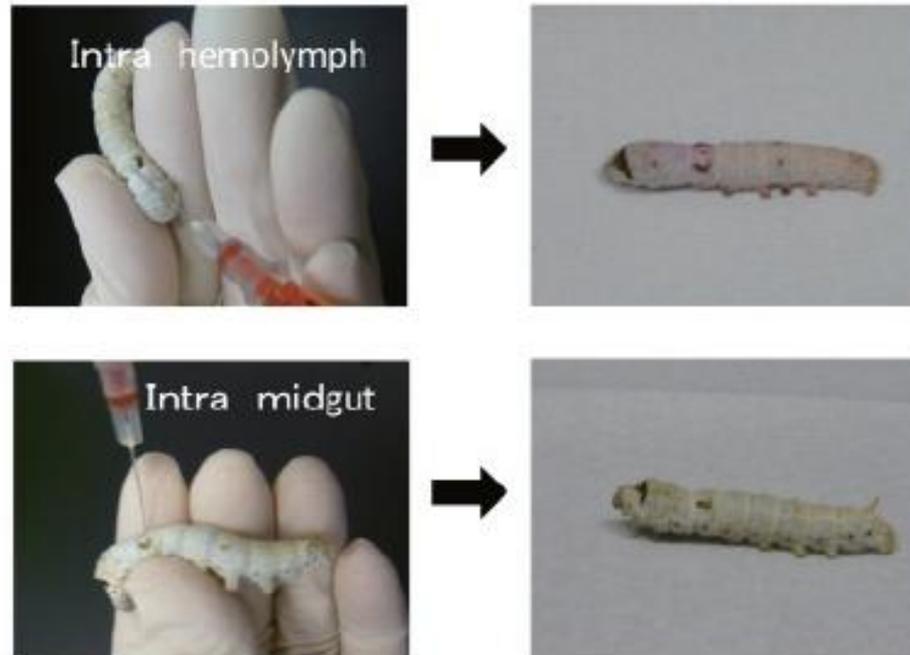


Figure 1. Injection into hemolymph and midgut. When injection angle is shallow, red ink is injected into blood (Upper). On the other hand, when injection angle is deep, it is injected into midgut and silkworm is not stained (Lower).

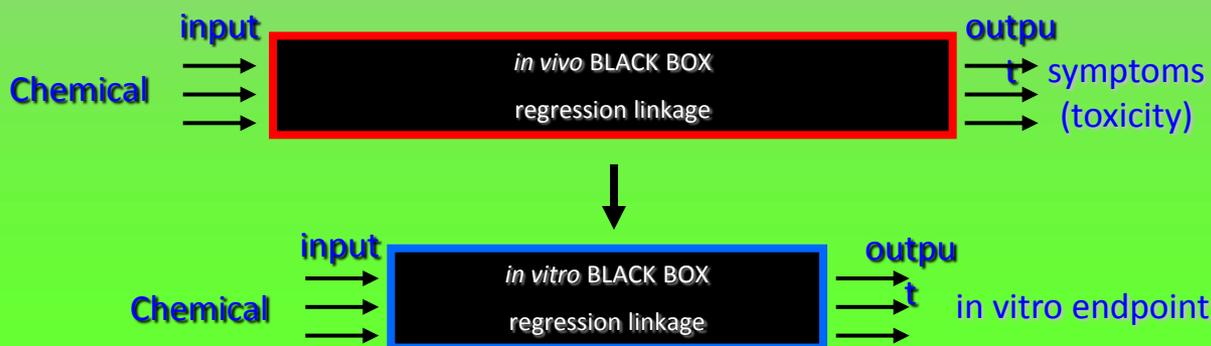
今後の国際的な動向

現在の代替法の特徴

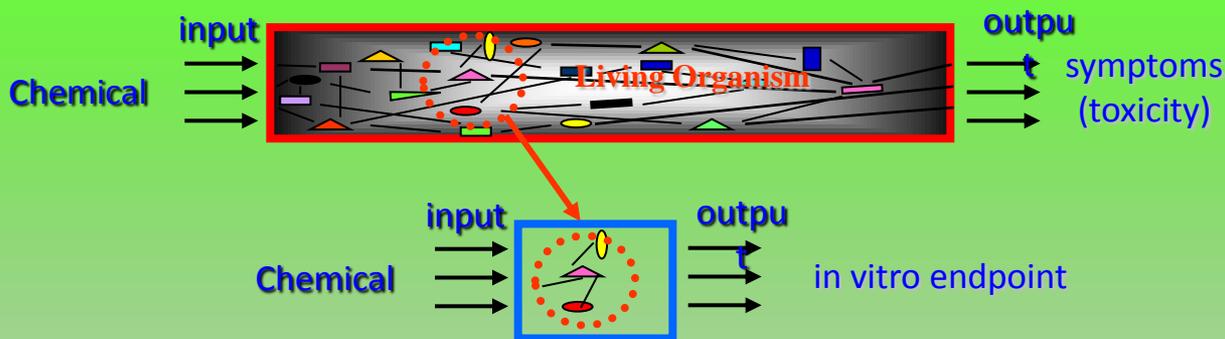
- 単独試験法で安全性を担保できる代替法はない。
- 物性、既存物質との比較、構造活性相関、別の代替法との組み合わせが必要である。
- 試験ありきでなく、情報を活用した毒性の想定が重要である。
- 有害性の評価には有用だが、リスク評価はできない。
- 正確性が良くても、偽陰性の多い方法は認められない。

動物モデルと*in vitro*

(1) Miniature BlackBox Approach

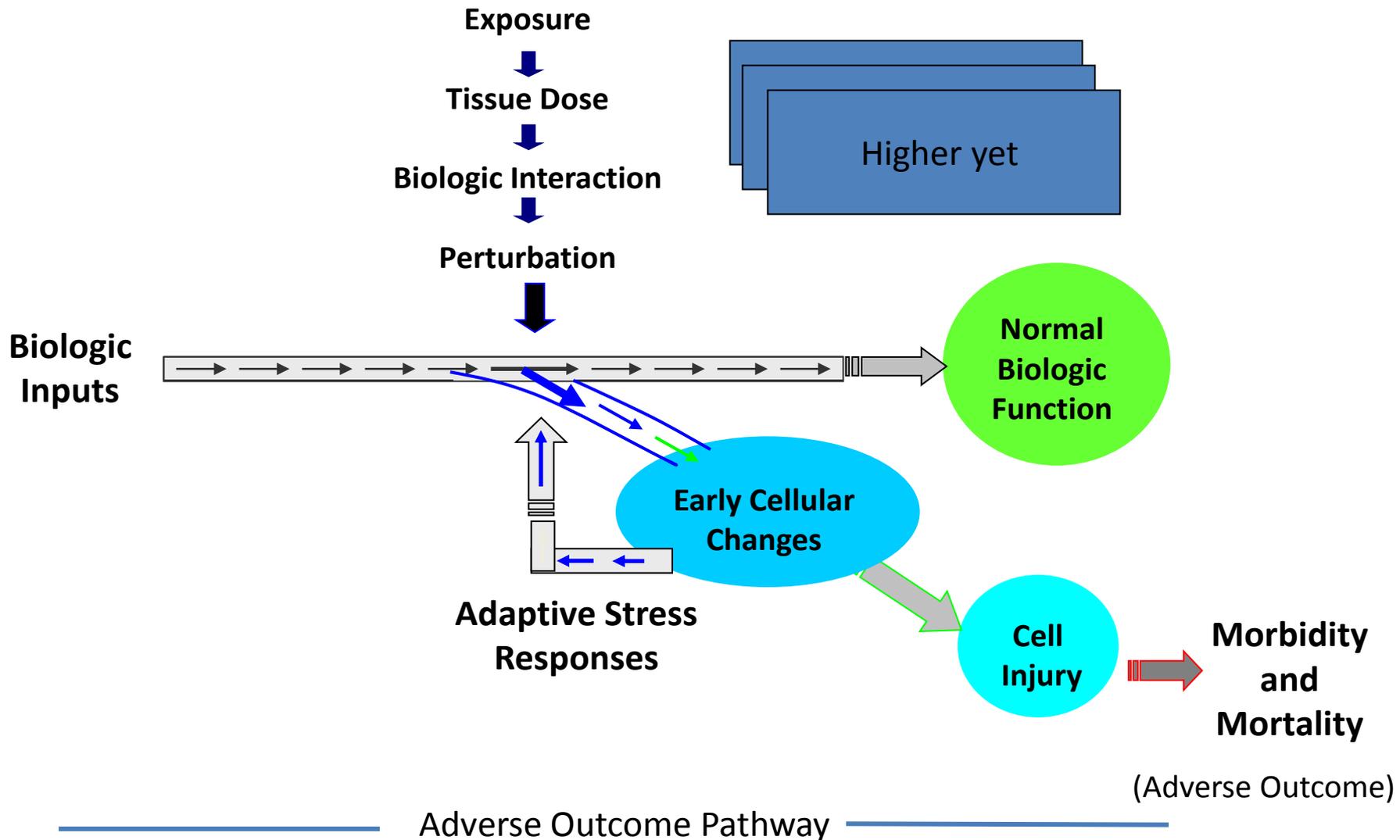


(2) *In vivo* mechanism Excision Approach

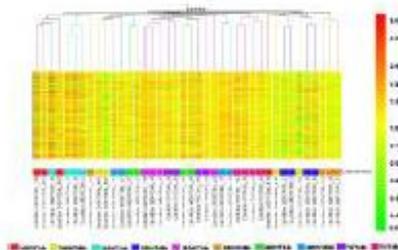
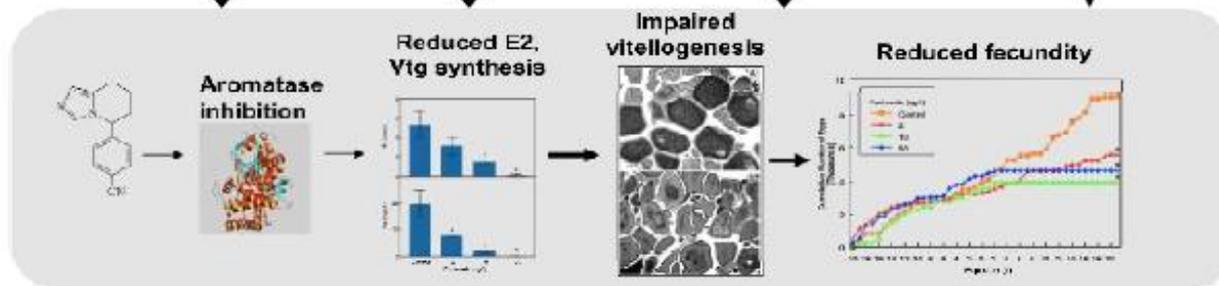
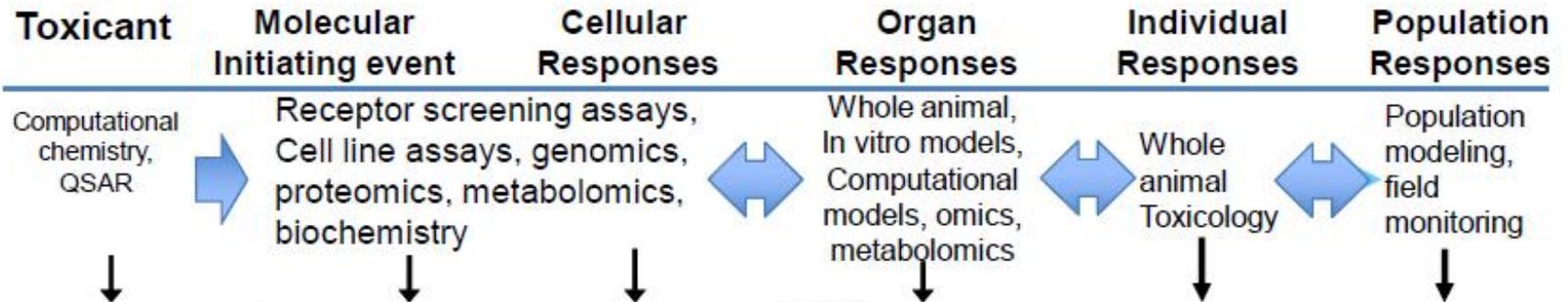


- (1) Miniature BlackBox Approach requires “diagnostic” process similar to *in vivo* studies. Until cellular symptoms are well understood to the level of *in vivo* diagnosis, the validation process will be virtually endless.
- (2) Mechanism-excision type methods always have Positive controls and Negative controls. With which the validation process is easy and concise.

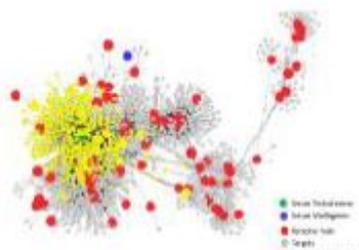
Perturbation of Toxicity Pathways



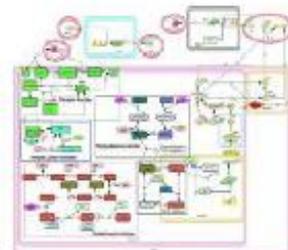
AOP and alternative animals in human health assessment



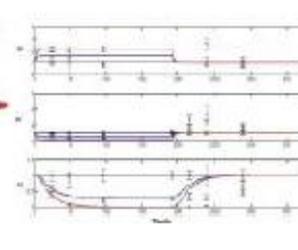
Screening for toxicological effects and chemicals



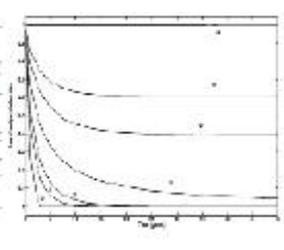
Pathway and network impacts



Mechanistic modeling

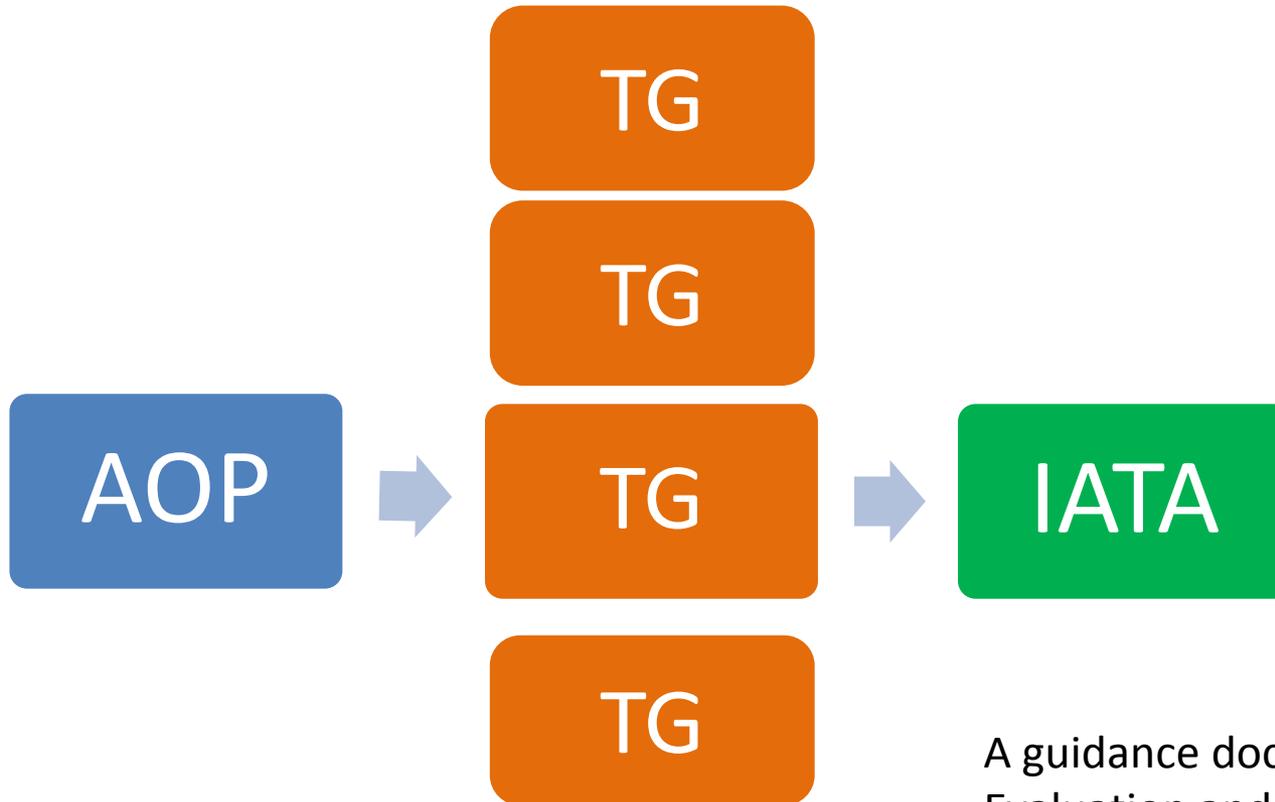


Predicted effect



Population impact

行政的な受入れに関するOECDの戦略



AOP: Adverse
Outcome Pathway

TG: Test Guideline

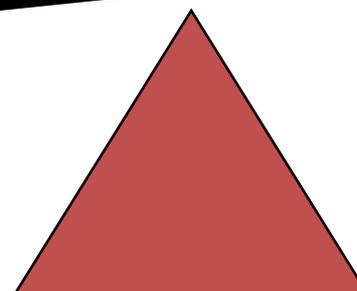
A guidance document on the
Evaluation and Application of
Integrated Approaches to Testing
and Assessment (IATA)

In vitro試験の利用と安全性のバランス

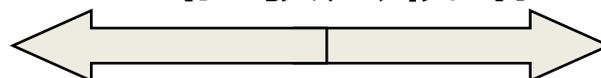
コスト

動物実験の3Rs

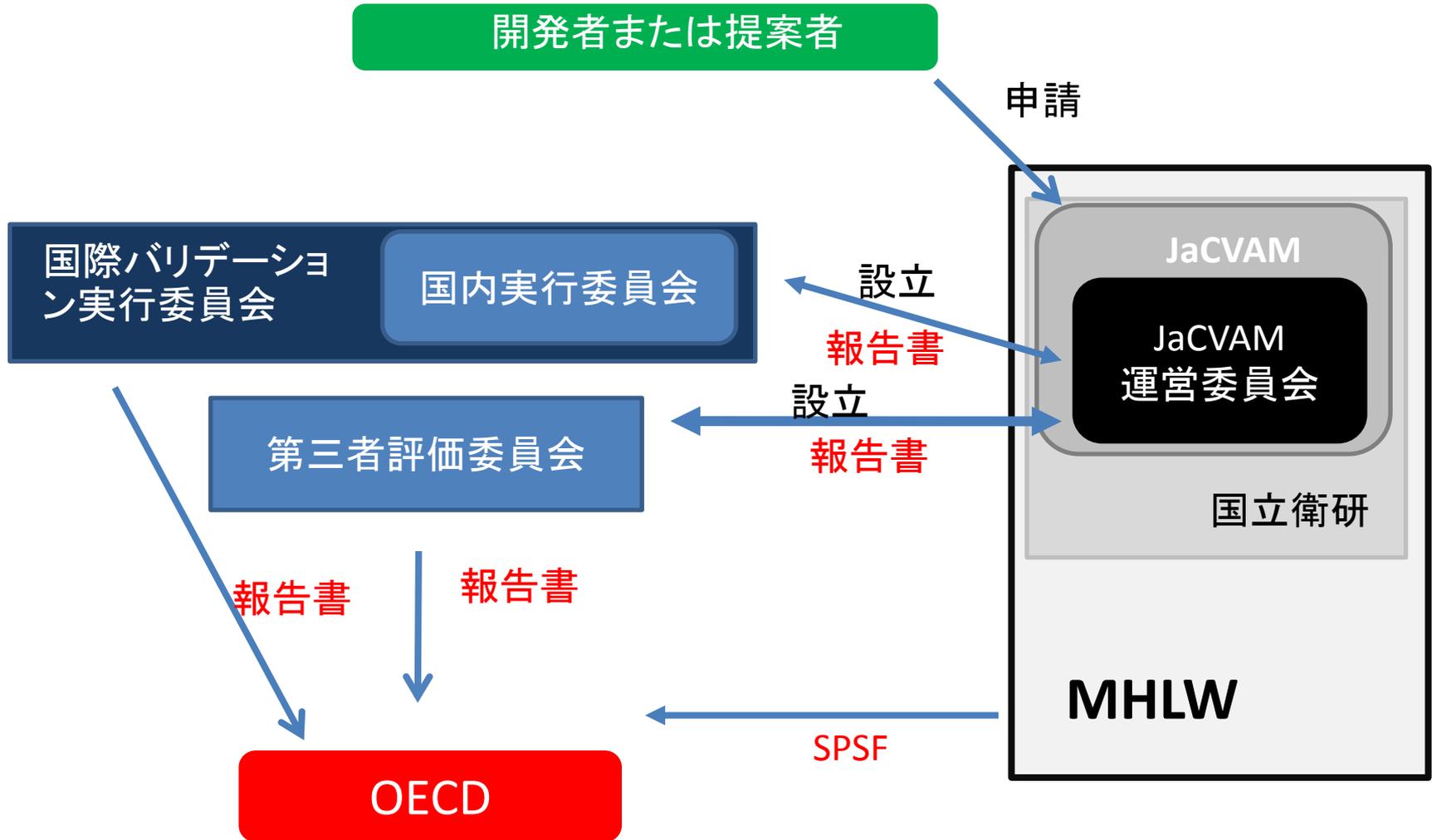
安全性確保



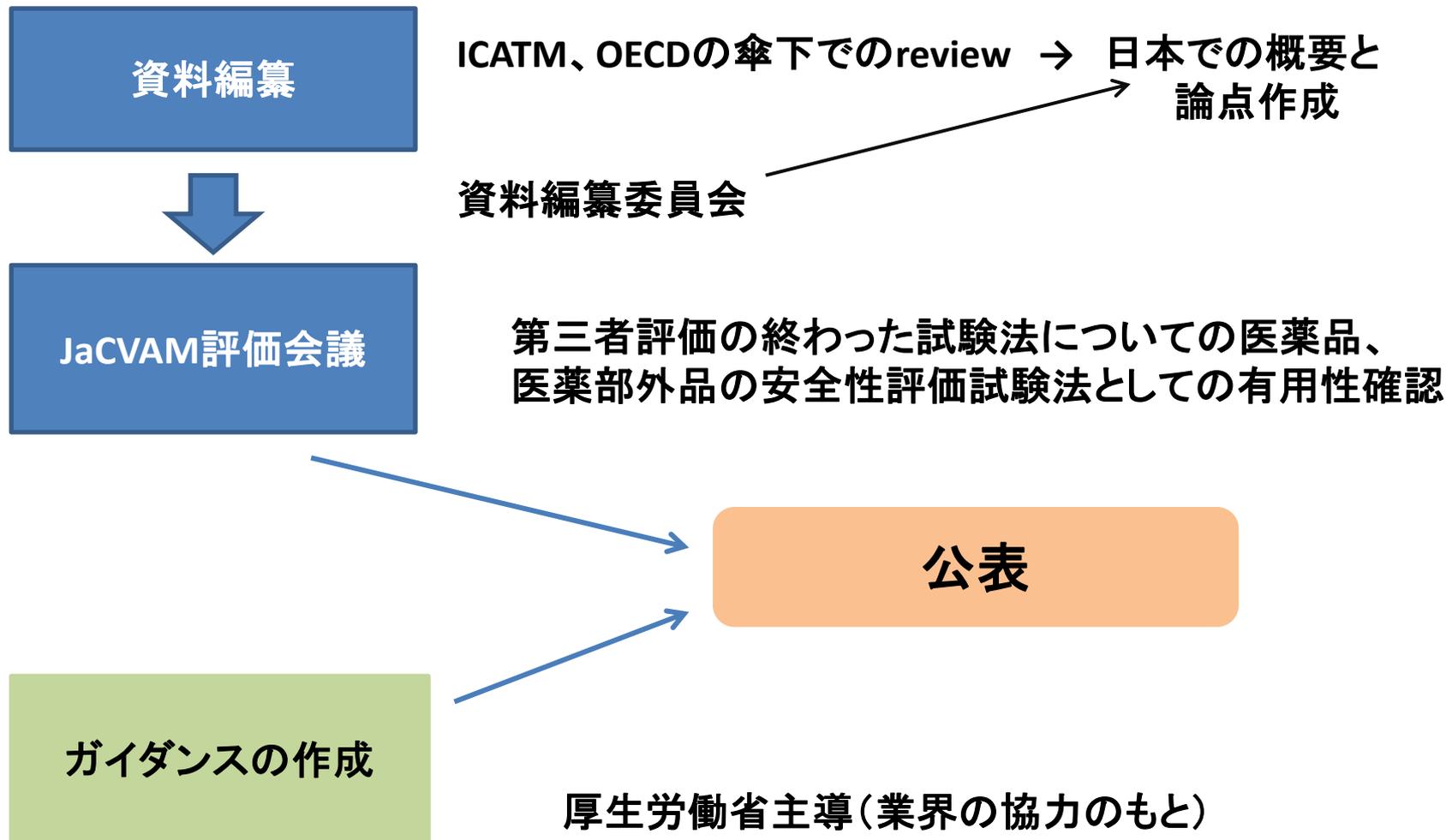
試験法戦略



今後の試験法に関するまとめ1



今後の試験法に関するまとめ2





About JaCVAM



Update on JaCVAM



Academic activities



Submission of Alternative
Methods to JaCVAM



International Cooperation

御静聴ありがとうございました

Policy and Mission: JaCVAM's policy and mission is to promote the 3Rs in animal experiments for the evaluation of chemical substance safety in Japan and establish guidelines for new alternative experimental methods through international collaboration.

the 3Rs in animal experiments—Reduction (of animal use)

Refinement (to lessen pain or distress and to enhance animal well-being)

Replacement (of an animal test with one that uses non-animal systems or phylo-genetically lower species)
(OECD GD34)

News

⊕【NEW】news texts dummy texts news texts dummy texts
news texts dummy texts(2009.7.16)

⊕news texts dummy texts news texts (2009.7.3)

⊕news texts dummy texts news texts dummy texts news
texts dummy texts (2009.7.3)

Contents

⊕About JaCVAM

Message from JaCVAM / Policy and Mission of JaCVAM /

Organization of JaCVAM / Glossary /

Proposal for Engagement Rules

⊕JaCVAM Activities