

2013年12月20日  
日本動物実験代替法学会

# 動物実験代替法開発における 課題とカイコの可能性



国立医薬品食品衛生研究所  
小島 肇

# 内容

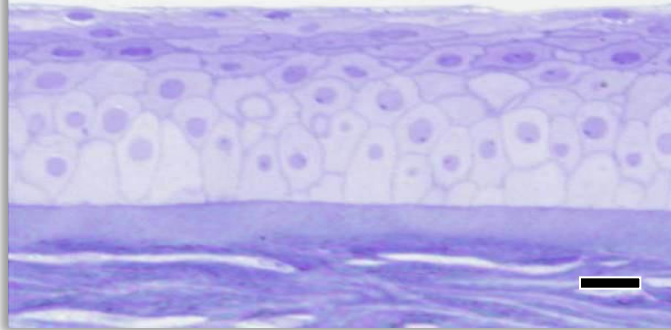
1. *In vitro*試験とその限界
2. 行政的な受入れの問題点

# *In vitro*試験とその限界

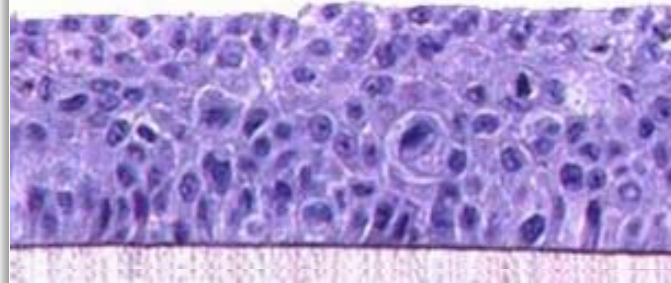


# 三次元角膜再構築モデル

Human Cornea Tissue



HCE / CORNEAL EPITHELIUM (SkinEthic)

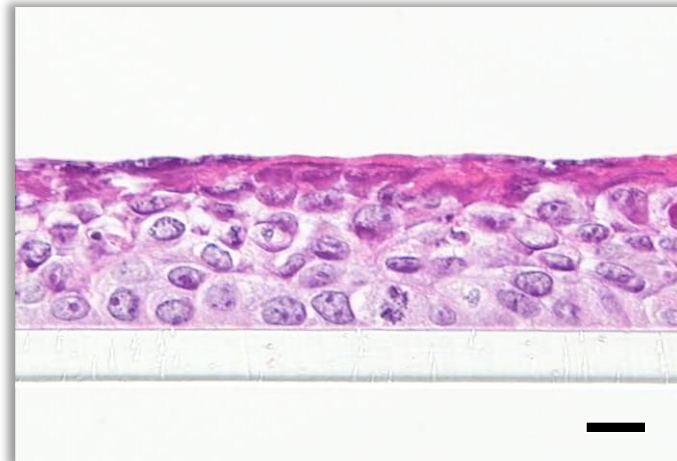


HPより引用

LabCyte CORNEA-MODEL (J-TEC)



HPより引用



bar = 20 $\mu$ m

# R社の掲げる万能細胞ビジネス(次世代バイオ産業)

HPより借用

<p>事業領域</p>	<p>研究試薬 研究機器</p> 	<p>創薬支援</p> 	<p>テイラーメイド 医療</p> 	<p>再生医療</p> 
<p>実現時期</p>	<p>現在</p>	<p>現在～5年後</p>	<p>5～10年後</p>	<p>5～20年後</p>
<p>市場規模</p>	<p>数百億円</p>	<p>数千億円</p>	<p>数兆円</p>	<p>数兆円</p>
<p>事業モデル</p>	<p>培地・抗体 研究用細胞 デバイス 機器</p>	<p>創薬モデル細胞 創薬用デバイス 検査受託</p>	<p>検査受託 細胞加工 細胞バンキング</p>	<p>医療用細胞 細胞バンキング</p>

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

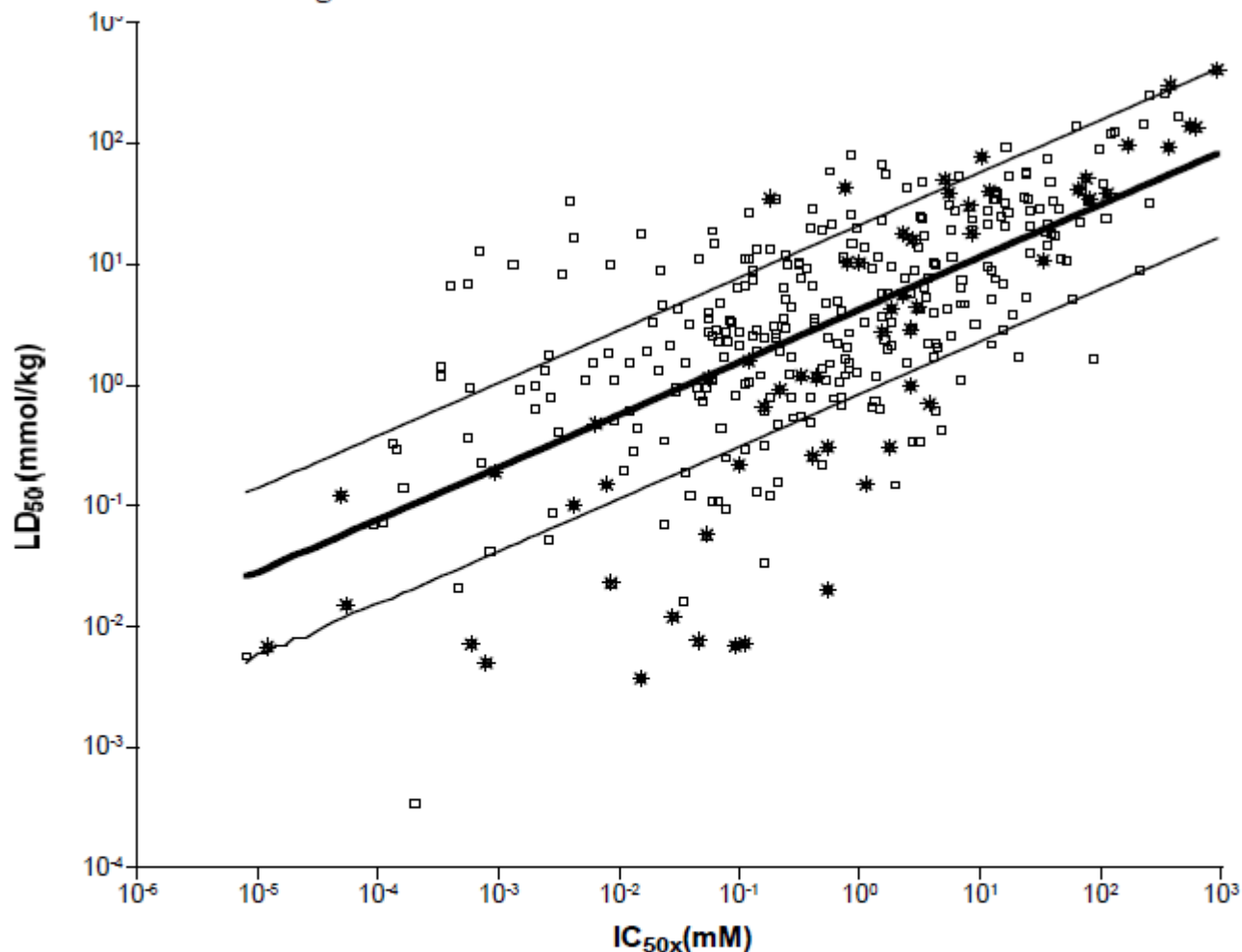
**Alternative (non-animal) methods for cosmetics testing: current status and future prospects-2010.** [Adler S](#), et al.,

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**.

## The Fifty-Eight (58) Selected RC Reference Substances on the RC Millimole Regression



Abbreviations: RC=Registry of Cytotoxicity; LD<sub>50</sub>=Dose that produces lethality in 50% of the test animals; IC<sub>50</sub>=Test substance concentration that reduces cell viability by 50%.  
The 58 RC chemicals tested in the NICEATM/ECVAM validation study are shown by \*. The RC regression,  $\log(\text{LD}_{50}) = 0.435 \times \log(\text{IC}_{50x}) + 0.625$ , is shown by the bold line. The lighter lines show the  $\pm \log 5$  (i.e.,  $\pm 0.699$ ) prediction interval (Halle 1998, 2003). The open boxes represent the 289 chemicals not included in the validation study.

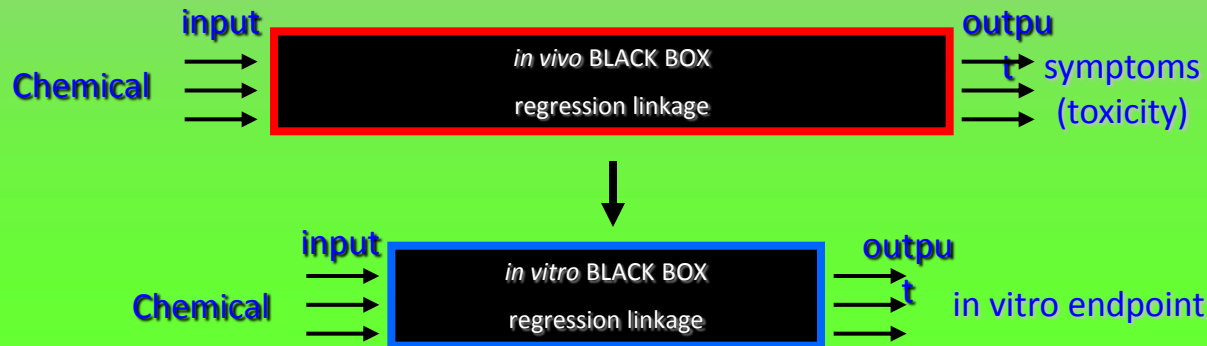
## *in vitro*試験の限界

- 局所毒性試験を中心にしか試験法が開発されていない。
- 単独試験法で安全性を担保できる試験法はない。
- 物性、既存物質との比較、構造活性相関 (*in silico*)、別の試験法との組み合わせが必要である。
- 有害性の評価には有用だが、リスク評価はできない。
- 行政的なガイドラインは、正確性が良くても、偽陰性の多い方法は認められない。

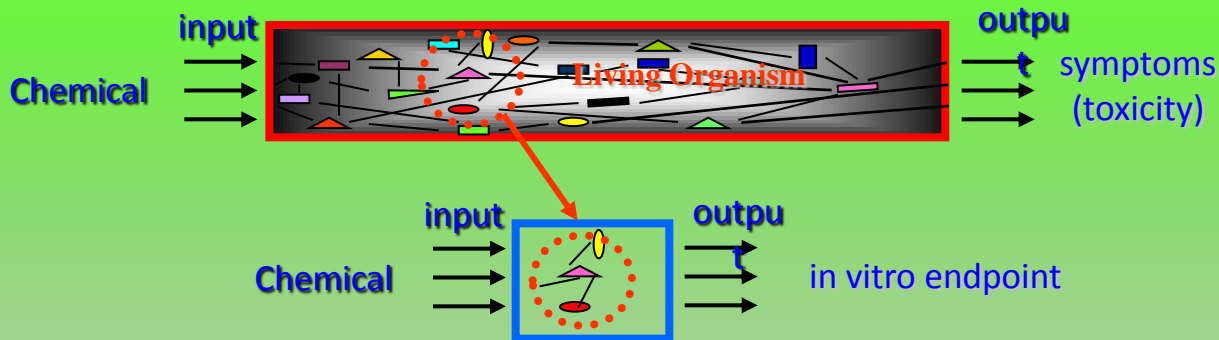


# 動物モデルと*in vitro*

## (1) Miniature BlackBox Approach



## (2) *In vivo* mechanism Excision Approach



菅野純博士より借用

- (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.

# 行政的な受入れの問題点

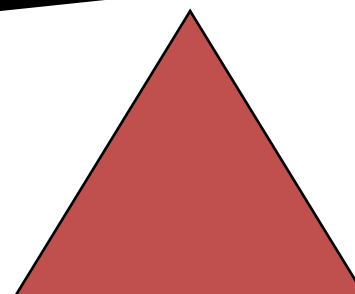


# In vitro試験の利用と安全性のバランス

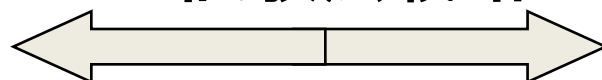
コスト

動物実験の3Rs

安全性確保



試験法戦略



# 急性毒性試験代替法開発の現状

- 急性経口毒性 LD50 > 2000 mg/kg b.w. 物質を同定するための *in vitro* 細胞毒性試験の評価が欧州で進んだ。

## <結論>

The 3T3 NRU test method should be considered only in the **context of an Integrated Testing Strategy (ITS)** or for **non-regulatory** screening.

# 最後に

このような状況の中、カイコを用いる毒性試験に注目している。カイコは哺乳類動物でみられるチトクロームP450による第一相薬物代謝と抱合反応を持つことから、化学物質のヒトへの影響を評価する試験法への応用の可能性が高いと考えており、急性毒性や反復投与毒性試験の代替法として期待している。



About JaCVAM



Update on JaCVAM



Academic activities



Submission of Alternative  
Methods to JaCVAM



International Cooperation

**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)

御静聴ありがとうございます

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