OECD/OCDE

2015/07/28

試験ガイドライン No.404

急性皮膚刺激性／腐食性

ご利用に関する注意事項

本文書および本文書に掲載している翻訳は OECD による公式文書**ではありません**。本文書における翻訳と原文の間に用語ないし表現等の齟齬がある場合、**原文のみが有効とみなされます**。内容について疑義が生じた場合、もしくは研究に公的な認証を必要とする場合は、原文に準拠してください。
本翻訳を使用したことに起因する如何なる損害について、当所は一切責任を負いません。
This document and translation are NOT official work by OECD. In the event of any discrepancy between the original work and the translation, **only the text of the original work should be considered valid**. Refer to the original document when there is any doubt about the translation, or legal or official verification is needed for your study. NIHS takes no responsibility even if you get any damage by using this translation.

Original work:

OECD (2015), Test No. 404: Acute Dermal Irritation/Corrosion, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, https://doi.org/10.1787/9789264242678-en.

©OECD (2015)

You are free to use this material subject to the terms and conditions available at

http://www.oecd.org/termsandconditions/

経済協力開発機構 （OECD）の化学物質の 試験に関するガイドライン Section 4 Health effects
邦訳: 国立医薬品食品衛生研究所(NIHS) 安全性予測評価部

2015 年 7 月 28 日採択

OECD の化学物質の試験に関するガイドライン

急性皮膚刺激性／腐食性

はじめに

1. 経済協力開発機構（OECD）の化学物質の試験に関するガイドラインは、利用可能で最高の科学を反映するように定期的に改訂される。本ガイドラインの点検においては、動物福祉の問題に関する可能な改善や実験動物での不必要な試験を回避するために被験物質に関するすべての既存情報の評価について、特別の注意が払われた。ガイドライン 404（1981 年初版採択および 1992 年、2002 年、2015 年改訂）のこの更新版は、皮膚刺激性試験および皮膚腐食性試験のモジュール接近法を提唱する皮膚刺激性／腐食性試験および評価に関する統合的アプローチ（IATA）ガイダンス文書(1)を参照している。本 IATA ガイダンス文書には、情報源をグループ化する複数のモジュールと分析ツールが記載され、(i) 皮膚刺激性および皮膚腐食性の可能性がある化学物質を評価する場合の、既存の試験データと非試験データの統合法および使用法、(ii) さらなる試験を要する場合に提唱されるアプローチについてのガイダンスが提示されている(1)。加えて、必要に応じて、初回 *in vivo* 試験における動物への 3 つの試験パッチの、同時ではなく連続的な使用が本ガイドラインでは推奨される。

2. 皮膚刺激性および腐食性の定義を、本ガイドラインの補遺に示す。

最初に考慮すべき事項

3. 健全な科学および動物福祉両方の利益のために、証拠の重み（WoE）分析において被験物質の潜在的皮膚腐食性／刺激性に関するすべての利用可能なデータが評価されるまで、*in vivo* 試験は実施されるべきでない。このことは、皮膚刺激性／腐食性試験および評価に関する統合的アプローチガイダンス文書、すなわち、本ガイダンスの 3 つのパートおよび対応するモジュール(1)に示されているとおりである。簡潔に述べると、パート 1 の下では、既存のデータについて、ヒトデータ、*in vivo* データ、*in vitro* データ、物理化学的特性データ（たとえば、特に強い酸性またはアルカリ性における pH）、非試験方法を対象に、7 つのモジュールについて検討を行う。パート 2 の下では、WoE 分析が実施される。本 WoE 分析でもなお結論に達しない場合、パート 3 においてさらなる試験を実施し、*in vitro* 試験法から開始

© OECD, (2015)
本資料は、個人的な非営利目的であれば、出典を適切に明記するという条件で、OECD に事前の承諾を得ることなく自由に使用してよい。本資料を商業的に利用する場合は、必ず OECD の書面による承諾を得なければならない。

し最後の手段として *in vivo* 試験を用いるべきである。よって、この分析では、被験物質の皮膚腐食性／刺激性に関する *in vivo* 試験の必要性は、これら 2 つの評価項目について別の試験から十分な証拠が既に存在する物質の場合、低下するはずである。

***in vivo* 試験の概要**

4. 試験すべき被験物質を単回用量で実験動物の皮膚に塗布する。被験動物の未処理の皮膚部分が対照となる。刺激性／腐食性の程度を規定の間隔で読み取り、採点し、さらに作用の完全な評価を提供するために記載する。試験期間は、観察された作用の可逆性または不可逆性を評価するのに十分な長さとすべきである。

5. 試験のいずれかの段階で重度の障害や苦痛の継続的徴候を示す動物は、人道的に屠殺し、被験物質は相応に評価する。瀕死および重度の苦痛を受けている動物を人道的に屠殺する決定を行うための判定基準は、別のガイダンス文書(2)に準拠する。

***in vivo* 試験の準備**

動物種の選択

6. アルビノウサギが望ましい実験動物であり、健康な若齢成熟ウサギを使用する。別の種を使用する場合、その妥当性を提示する。

動物の準備

7. 試験の約 24 時間前に、動物の胴体背部をごく短く毛刈りして被毛を除去する。皮膚の擦過を回避するよう注意し、健康で無傷の皮膚を持つ動物のみを使用する。

8. 一部の系統のウサギは、1 年の特定時期に顕著となる被毛の密な部分を持つ。そのような被毛の密な発生範囲は、試験部位として使用しない。

飼育および給餌条件

9. 動物は個別に飼育する。動物飼育室の温度は、ウサギでは 20°C ± 3°C とする。相対湿度は目標値を 50%～60%とし、30%以上、70%を超えないこと（飼育室清掃時を除く）が望ましい。照明は人工照明で 12 時間明期、12 時間暗期とする。飼料は、通常の実験動物用飼料を用いてよい。飲水は自由に摂取させる。

© OECD, (2015)

試験手順

被験物質の塗布

10. 被験物質を皮膚の小区画（約 6 cm^2）に塗布し、ガーゼパッチで被覆し、非刺激性テープで固定する。直接塗布が不可能な場合（たとえば、液体またはある種のペースト）は、まず被験物質をガーゼパッチに塗布、次いでそれを皮膚に付ける。パッチは曝露期間にわたって、適切な半密閉性の包帯材により皮膚に緩く接触させて保持する。被験物質をパッチに付ける場合は、皮膚上で被験物質が良好に接触し均一に分布する方法でパッチを皮膚に付着させる。動物がパッチに触れたり、被験物質を摂取または吸入したりするのを防ぐ。

11. 液体被験物質は、通常は非希釈で使用する。固体（必要と考えられる場合は、微粉砕してもよい）で試験する場合、被験物質は、良好な皮膚接触を確実にするのに十分な最小量の水（または必要に応じて別の適切な媒体）で湿らせる。水以外の媒体を使用する場合、被験物質による皮膚刺激にその媒体が影響を及ぼす可能性があれば最小とすべきである。

12. 曝露期間は通常 4 時間とし、その終了時に残存する被験物質を、実行可能な場合は、既存の反応または表皮の完全性を変化させることなく、水または適切な溶液を用いて除去する。

用量

13. 液体 0.5 mL または固体もしくはペースト 0.5 g の用量を、被験部位に塗布する。

初回試験（動物 1 例を用いる *in vivo* 皮膚刺激性／腐食性試験）

14. 証拠の重み分析または過去の *in vitro* 試験に基づいて、被験物質が腐食性、刺激性、または分類不能であると判断された場合、通常さらなる *in vivo* 試験は不要である。ただし、追加データが必要と考えられる場合は、最初に動物 1 例を用い下記手法を適用して *in vivo* 試験を実施する。最大 3 つの試験パッチを、連続して動物に塗布する。第 1 のパッチは、3 分後に除去する。重度の皮膚反応が観察されない場合は、第 2 のパッチを別の部位に塗布し、1 時間後に除去する。この段階の観察で曝露が 4 時間まで人道的見地から延長可能と認められる場合は、第 3 のパッチを塗布し、4 時間後に除去し、反応を類別する。

15. 3 つの連続した曝露のいずれかの後に腐食作用が観察される場合は、試験を直ちに終了する。最後のパッチを除去後に腐食作用が観察されない場合で、腐食が 14 日より早期の時点で生じなければ、動物を 14 日間観察する。

© OECD, (2015)

16. 被験物質は腐食を生じないと予測されるが刺激性の可能性がある場合、動物 1 例にパッチ 1 つを 4 時間塗布する。

確認試験（追加動物を用いる *in vivo* 皮膚刺激性試験）

17. 初回試験で腐食作用が観察されない場合は、最大 2 例の追加動物で、それぞれ 1 パッチを用いて曝露期間 4 時間で刺激反応および陰性反応の有無を確認する。初回試験で刺激作用が観察される場合は、確認試験を連続的な方法か、2 例の追加動物に同時に曝露させることによって実施することができる。初回試験が実施されない例外的な場合には、2 または 3 例の動物を 1 パッチで処理することができ、パッチを 4 時間後に除去する。動物 2 例を使用する場合には、両方が同一の反応を示すならばさらなる試験は不要である。そうでなければ、3 例目の動物もまた試験する。あいまいな反応は、追加動物を用いた評価を要する場合がある。

観察期間

18. 観察期間の長さは、観察された作用の可逆性を完全に評価するのに十分なものとすべきである。しかし、動物が重度の苦痛または障害の継続的徴候を示す場合は、その時点で実験を終了する。作用の可逆性を決定するために、パッチ除去後に動物を最大 14 日間観察する。可逆性が 13 日以前に見られた場合は、実験をその時点で終了する。

一般状態観察および皮膚反応の類別

19. すべての動物について紅斑および浮腫の徴候を調べ、反応をパッチ除去後 60 分、次いで 24、48、72 時間で採点する。1 例での初回試験については、試験部位はパッチを除去した直後にも調べる。皮膚反応は下記に示す表の等級に従って類別し、記録する。72 時間で刺激または腐食とは同定できない皮膚への損傷があれば、その作用の可逆性を決定するために観察は 14 日目まで要してもよい。刺激性の観察に加えて、たとえば皮膚の脱脂といったすべての局所毒性作用および何らかの全身性有害作用（たとえば、毒性の臨床徴候および体重に対する作用）を完全に記載し、記録する。あいまいな反応を解明するため、病理組織学的検査を考慮する。

20. 皮膚反応の類別は、必然的に主観的となる。皮膚反応の類別における調和を促進し、試験施設および関係者が観察を実施・解釈するのを助けるために、使用する採点システム（下記の表を参照）について観察を行う人員を適切に訓練する必要がある。皮膚刺激およびその他の病変を類別するための図解手引き(3)が有用であると考えられる。

© OECD, (2015)

データおよび報告

21. 試験結果は、最終試験報告書において表形式に要約し、段落 24 に列記するすべての項目を含む。

結果の評価

22. 皮膚刺激スコアは病変の性質および重症度、ならびにその可逆性または可逆性の欠如を併せて評価する。被験物質の別の作用も評価されるため、個別のスコアは物質の刺激性についての絶対的な基準を表さない。それよりも個別スコアは参照値とみなし、試験からの他の観察結果すべてと組み合わせて評価する必要がある。

23. 皮膚病変の可逆性は、刺激反応の評価において考慮されるべきである。脱毛（限定範囲）、角質増殖、肥厚化、落屑といった反応が 14 日間の観察期間の終了まで持続する場合は、被験物質は刺激性物質と考えるべきである。

試験報告書

24. 試験報告書には、以下の情報を含まなければならない。

*in vivo 試験の妥当性：*連続的試験戦略からの結果を含む、既存の試験データの証拠の重み分析：

- 先行試験から利用可能な関連データの記載
- 試験戦略の各段階で得られたデータ
- 手順の詳細、被験物質／参照物質を用いて得られた結果を含む、実施した *in vitro* 試験の記載
- *in vivo* 試験を実施するための証拠の重み分析

被験物質：

- 単一成分物質：化学的識別情報、たとえば IUPAC または CAS 名、CAS 番号、SMILES または InChI コード、構造式、純度、該当する場合で現実的に可能であれば不純物の化学的同定など
- 多成分物質、混合物、UVCB 物質（組成が不明または不定の物質、複雑な反応生成物または生体物質）：構成成分の化学的同定（上記参照）、含有量および関連のある物理化学的性質によるできる限りの特徴付け
- 外観、水溶性およびその他の関連する物理化学的性質
- 供給元、入手可能であればロット番号
- 該当する場合、被験物質／対照物質の前処理（たとえば、加温および粉砕）

© OECD, (2015)

- 既知であれば、被験物質の安定性、使用期限あるいは再分析日
- 保存条件

媒体：

- 特定、濃度（必要に応じて）、使用容量
- 媒体選択の妥当性

供試動物：

- 使用した動物種／系統、アルビノウサギ以外の動物を使用する妥当性
- 性別ごとの動物数
- 試験開始時および終了時の個体ごとの体重
- 試験開始時の年齢
- 供給元、飼育条件、飼料など

試験条件：

- パッチ部位の調整方法
- 使用したパッチ材料およびパッチ方法の詳細
- 被験物質調製、塗布、および除去の詳細

結果：

- 測定全時点における各個体についての刺激性／腐食性応答スコアの表
- 観察されたすべての病変の記載
- 観察された刺激または腐食の性質および程度、ならびにあらゆる病理組織学的知見の叙述的記載
- 皮膚刺激または腐食に加えて、他の局所有害作用（たとえば、皮膚の脱脂）および全身性有害作用の記載

結果の考察

結論

© OECD, (2015)

参考文献

1) OECD (2014). Guidance document on Integrated Approached to Testing and Assessment for Skin Irritation/Corrosion. Environmental Health and Safety Publications, Series on Testing and Assessment, (No. 203.), Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.

2) OECD (1998) Harmonized Integrated Hazard Classification System for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances, as endorsed by the 28th Joint Meeting of the Chemicals Committee and the Working Party on Chemicals, November 1998 (http://www.oecd.org/ehs/Class/HCL6.htm).

3) OECD (2000). Guidance Document on the Recognition, Assessment and Use of Clinical Signs as Humane Endpoints for Experimental Animals Used in Safety Evaluation. Environmental Health and Safety Publications, Series on Testing and Assessment (No. 19.), Organistion for Economic Cooperation and Development, Paris.

© OECD, (2015)

表：皮膚反応の類別

紅斑および痂皮形成

紅斑なし.....0
ごく軽度の紅斑（かろうじて識別できる）.....1
明瞭な紅斑.....2
中等度から重度の紅斑.....3
重度の紅斑（肉赤色）から紅斑の類別を妨げる痂皮形成.....4

最大値：4

浮腫形成

浮腫なし.....0
ごく軽度の浮腫（かろうじて識別できる）.....1
軽度の浮腫（領域の端が明瞭な隆起で定義される）.....2
中等度の浮腫（約 1 mm 隆起）.....3
重度の浮腫（1 mm を上回り、曝露範囲を越えて隆起）.....4

最大値：4

あいまいな反応を解明するため、病理組織学的検査を実施できる。

© OECD, (2015)

補遺

定義

1. 皮膚刺激とは、最大 4 時間にわたる被験物質塗布後、皮膚に可逆的障害が生じることである。

2. 皮膚腐食とは、最大 4 時間にわたる被験物質塗布後、皮膚に非可逆的障害、すなわち表皮から真皮に至る目視可能な壊死が生じることである。腐食性反応は、潰瘍、出血、血性痂皮、ならびに、14 日目の観察終了時までに生じる皮膚の漂白に起因する脱色、完全な脱毛部位、および瘢痕に代表される。不確かな病変を評価するためには、病理組織学的検査を考慮する。

© OECD, (2015)