OECD/OCDE

2017/10/09

# 試験ガイドライン No.405

急性眼刺激性／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 (2017), Test No. 405: Acute Eye Irritation/Corrosion, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, https://www.oecd.org/content/dam/oecd/en/topics/policy-sub-issues/testing-of-chemicals/previous-test-guidelines/section-4/replaced-test-guidelines/tg405_eng_2017.pdf

©OECD(2017)

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

# TG 405

採択
2017 年 10 月 9 日

# 化学物質の試験に関する OECD ガイドライン

## 急性眼刺激性／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点検される。これまでの本ガイドラインの点検においては、実験動物での不必要な試験を回避するために、またそれによって動物福祉の問題に対処するために、被験物質に関するすべての既存情報の評価による可能な改善について、特別の注意が払われた。ガイドライン 405（1981 年採択および 1987 年、2002 年、2012 年更新）は、物質の急性眼刺激性／腐食性について記載された *in vivo* 試験を行う前に、既存の関連データに関して証拠の重み分析を実施するという勧告を含む(1)。利用可能なデータが不十分である場合は、重度の眼損傷性および眼刺激性についての「試験および評価に関する統合的アプローチ（IATA）」のガイダンス文書に従うことが推奨されている（21）。動物での試験は、利用可能な代替法の検討後に必要であると判断された場合、および動物の使用が適切であると判断された場合に限り実施すべきである。本更新版ガイドライン 405 が草案の時点において、本ガイドラインの使用が一部規制当局によりなお必要または必須とされる場合がある。

2. 最新の更新版では、本ガイドラインの基本的な概念および構造には影響を与えず、鎮痛剤および麻酔剤の使用に主に焦点を当てた。米国動物実験代替法検証省庁間連絡委員会（Interagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods（ICCVAM））および独立した国際的な科学的第三者評価委員会が、眼刺激性の *in vivo* 安全性試験の際に定常的に用いる局所麻酔剤、全身鎮痛剤、人道的観点の有用性および限界について点検した(12)。点検の結果、委員会は局所麻酔剤および全身鎮痛剤の使用により、同試験の結果に影響を及ぼさずに、疼痛および苦痛のほとんどまたはすべてを回避可能であると結論づけ、これらの薬剤を常に使用すべきであると勧告した。本ガイドラインは、この点検結果を考慮に入れている。局所麻酔剤、全身鎮痛剤、人道的観点は、急性眼刺激性および腐食性の *in vivo* 試験の際、定常的に用いるべきである。これらの使用に異を唱える場合には、その根拠を示すべきである。*In vivo* 眼安全性試験がなお必要とされる場合、本ガイドライン記載の改善点により、動

**©OECD, (2017)**
本資料は、http://www.oecd.org/termsandconditions/に掲載されている諸条件に従って自由に使用することができる。

物の疼痛および苦痛は、ほとんどの試験の実施状況において実質的に軽減または回避される こととなる。

3. 予防的苦痛管理のバランスをとるには、次の 4 項目を含めるべきである。(i)局所麻酔剤（たとえばプロパラカインまたはテトラカイン）および全身鎮痛剤（たとえばブプレノルフィン）による定常的な前処理。(ii)全身鎮痛剤（たとえばブプレノルフィンおよびメロキシカム）による後処理（後処置）の定常的なスケジュール。(iii)動物の疼痛や苦痛の臨床徴候に関する観察、モニタリング、記録のスケジュール化。(iv)眼の損傷すべての性質、重症度、進行に関する観察、モニタリング、記録のスケジュール化。さらなる詳細については、以下記載の更新版手順に示す。被験物質投与後には、本試験の妨げとなるのを避けるため、「局所」麻酔剤または鎮痛剤を追加適用すべきではない。抗炎症活性を有する鎮痛剤（たとえばメロキシカム）は、局所的に適用すべきではない。また、全身に用いる場合、眼に対する作用の妨げとなる投与量にすべきではない。

4. 用語の定義を、本ガイドラインの補遺に示す。

## ガイドラインの目的

5. 健全な科学および動物福祉の両方の利益のために、証拠の重み分析において物質の潜在的眼腐食性／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* 試験は考慮されるべきでない。そのようなデータは、ヒトや実験動物における既存の研究からの証拠、構造的に関連する 1 つ以上の物質またはそのような物質の混合物の眼腐食性／刺激性の証拠、物質の強い酸性またはアルカリ性を示すデータ(4)(5)、ならびに皮膚腐食性および眼腐食性／刺激性について有効性を評価され容認された *in vitro* または *ex vivo* 試験からの結果(6)(13)(14)(15)(16)(17)を含む。これらの試験は証拠の重み分析の前に、またはその結果として実施してもよい。

6. 一部の物質については、そのような分析は物質の潜在的眼腐食性／刺激性の *in vivo* 試験の必要性を示す可能性がある。そのようなすべての場合において、*in vivo* 眼試験の使用を考慮する前に、望ましくは物質の *in vitro* や *in vivo* 皮膚腐食性作用の試験を試験ガイドライン 404 (7)の連続的試験戦略に従ってまず実施し、評価すべきである。

7. 望ましい連続的試験戦略は、眼腐食性／刺激性に関する有効性を評価された *in vitro* または *ex vivo* 試験の実施を含め、本ガイドラインの補遺として含められる。*In vivo* 試験を行う前に、この試験戦略に従うよう勧告されている。新規物質については、本試験戦略は物質の腐食性／刺激性について科学的に健全なデータを生み出すために推奨される階層的試験手法である。皮膚および眼腐食性／刺激性についてデータが不十分である既存物質については、欠けてい



© OECD, (2017)

るデータギャップを埋めるために当該戦略を使用できる。異なる試験戦略または手順の使用、あるいは階層的試験手法を用いないという決定には根拠を示すべきである。

### *In vivo* 試験の概要

8. 全身鎮痛剤による前処理および適切な局所麻酔誘導後、試験すべき物質を単回用量で実験動物の片眼に適用する。未処理眼が対照となる。眼刺激性／腐食性の程度を、規定の間隔で結膜、角膜、および虹彩の病変を採点することにより評価する。眼における他の作用および全身性有害作用もまた、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、作用の可逆性または不可逆性を評価するのに十分なものとすべきである。

9. 試験のいずれかの段階で重度の疼痛および苦痛の徴候、あるいは本ガイドライン（段落 26 参照）記載の人道的観点と一致する病変を示す動物は、人道的に屠殺し、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の主題である(8)。

### *In vivo* 試験の準備

#### *種の選択*

10. 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。別の系統または種を使用するためには、理由を提示する。

#### *動物の準備*

11. 試験開始前 24 時間以内に、試験のために仮選抜された各実験動物の両眼を検査する。眼の刺激、眼の異常、または角膜損傷を示す動物は使用しない。

#### *飼育および給餌条件*

12. 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。相対湿度は少なくても 30%、できれば飼育室清掃時を除き 70%を超えないこととし、目標値を 50～60%とすべきである。照明は人工照明で 12 時間明期、12 時間暗期とする。過剰な光量は避けること。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。

### 試験手順

#### *局所麻酔剤および全身鎮痛剤の使用*

13. 眼安全性試験の手順では、以下の手順により疼痛および苦痛を回避または最小化することが推奨される。疼痛および苦痛の回避または軽減に、十分であるか優れていると判断された代替手順があれば代用してもよい。



© OECD, (2017)

- 被験物質適用（TSA）の 60 分前に、ブプレノルフィン 0.01 mg/kg を皮下注射（SC）し、全身鎮痛の治療レベルにする。全身投与されるブプレノルフィンおよびそれ以外の類似のオピオイド鎮痛剤は、眼反応を変えることが知られておらず予測されてもいない(12)。

- TSA の 5 分前に、点眼用局所麻酔剤（たとえば 0.5%塩酸プロパラカイン、または 0.5%塩酸テトラカイン）1～2 滴を両眼に点眼する。本試験の妨げとなる可能性を避けるため、防腐剤不含の局所麻酔剤が推奨される。被験物質は処理しないが局所麻酔剤は処理する各動物の眼は対照とする。被験物質により、著しい疼痛および苦痛が生じると予測される場合、通常は *in vivo* 試験を行うべきではない。しかし、そうしたことが生じるかどうかわからない場合、または試験が必要である場合、5 分間隔で局所麻酔剤を追加適用後の TSA を検討すべきである。局所麻酔剤を何度も適用した場合、重症度のわずかな悪化や化学的に誘導された病変の消失に要する時間のわずかな延長が生じ得ると考えられることを、認識しておくべきである。

- TSA の 8 時間後、ブプレノルフィン 0.01 mg/kg（SC）およびメロキシカム 0.5 mg/kg（SC）を投与し、引き続き全身鎮痛の治療レベルにする。メロキシカムを 1 日 1 回 SC 投与する場合、眼に抗炎症作用があることを示唆するデータはないが、本試験の妨げとなる可能性を避けるため、メロキシカムは TSA から 8 時間以上経過するまで投与すべきではない(12)。

- TSA 処理後最初の 8 時間が経過したら、ブプレノルフィン 0.01 mg/kg（SC）を 12 時間ごと、同時にメロキシカム 0.5 mg/kg（SC）を 24 時間ごとに投与し、これを眼病変が回復し、苦痛および障害の臨床徴候がなくなるまで行うべきである。徐放性鎮痛剤を用いた場合、鎮痛剤の投与頻度減少が考えられ、利用可能である。

- 予防的な鎮痛剤および局所麻酔剤が不十分な場合、TSA 直後に「レスキュー」鎮痛剤を投与すべきである。試験中動物が苦痛および障害の徴候を示した場合、ブプレノルフィン「レスキュー」用量 0.03 mg/kg（SC）を直ちに投与し、必要であれば、12 時間毎に 0.01 mg/kg を皮下投与することに代えて、8 時間毎に 0.03 mg/kg の皮下投与を繰り返す。ブプレノルフィン「レスキュー」投与と同時に、メロキシカム 0.5 mg/kg（SC）を 24 時間ごとに投与することが考えられるが、その場合 TSA 後 8 時間以上経過するまでは投与しない。

*被験物質の適用*

14. 下瞼を静かに眼球から離した後、各動物の片眼の結膜嚢に被験物質を付ける。被験物質の流出を防ぐため、次いで約 1 秒間、瞼を静かに閉じる。未処理のままの他眼が対照となる。

*洗浄*



© OECD, (2017)

15. 供試動物の眼は、固体（段落 18 参照）および即時の腐食性または刺激性作用の場合以外は、被験物質の滴下後少なくとも 24 時間は洗浄しない。24 時間で適切と考えられる場合は、洗浄してよい。

16. 科学的に正当化されない限り、洗浄の影響を調査するためのサテライト群の使用は推奨されない。サテライト群が必要な場合は、2 例のウサギを使用する。洗浄の条件、たとえば洗浄時間、洗浄液の組成および温度、使用時間、量および速度などは注意深く記録する。

*用量*

(1) 液体の試験

17. 液体の試験には、用量 0.1 mL を使用する。物質を直接点眼するために、ポンプスプレーは使用しない。液体スプレーは、噴出したものを容器に採取してから 0.1 mL をとり、点眼する。

(2) 固体の試験

18. 固体、ペーストおよび粒子状物質を試験する場合、使用量は体積 0.1 mL か、重量 100 mg 以下とする。被験物質は磨砕して微粉塵とする。固体材料の体積は、たとえば測定容器を叩くことにより静かに圧縮後に測定する。固体被験物質が処理後 1 時間の最初の観察時点で、生理的機構によって供試動物の眼から除去されていない場合、眼を生理食塩水または蒸留水で洗浄してよい。

(3) エアロゾルの試験

19. すべてのポンプスプレーおよびエアロゾルは、内容物を採取し点眼することが推奨される。気化するため採取できない加圧エアロゾル容器入りの物質だけは例外である。そのような場合は眼を開かせたまま、眼の直前 10 cm の距離から約 1 秒間 1 回の噴射で被験物質を眼に投与する。この距離は、スプレーの圧およびその含量に応じて変化してもよい。スプレーの圧で眼を損傷しないように注意する。適切な場合、スプレーの圧力に起因する眼への「機械的」損傷の可能性について評価を要することがある。

20. エアロゾルからの用量は、試験を下記の通りシミュレートすることによって推定できる。物質を秤量用紙に対し、紙の直前に置いたウサギの眼のサイズの穴を通してスプレーする。紙の重量増加を用いて、眼にスプレーされる量を概算する。揮発性物質については、被験物質の除去前後に収納容器を秤量することによって用量を推定してもよい。

*初回試験（動物 1 例を用いる in vivo 眼刺激性／腐食性試験）*



© OECD, (2017)

21. *In vivo* 試験は、まず動物 1 例を用いて実施することが強く推奨される（21）。観察は、第 2 の動物を用いた確認 試験へ進む前に、重症度と可逆性の判断を考慮して行うべきである。

22. 記載の手順を用いて、この試験結果が、物質が眼に対して腐食性または重度の刺激性物質であることを示す場合には、眼刺激性についてさらに試験は実施しない。

*確認試験（追加動物を用いる in vivo 眼刺激性試験）*

23. 初回試験で腐食作用または重度の刺激性作用が観察されない場合は、最大 2 例の追加動物で刺激反応の有無を確認する。初回試験で刺激作用が観察された場合は、2 例の追加動物を同時に曝露するよりも一度に 1 例で確認試験を連続的な方法で実施することが推奨される。第 2 の個体が腐食性または重度の刺激性作用を示す場合は、試験を継続しない。第 2 の個体の結果から危険有害性分類の判定が十分に可能である場合、さらに試験を実施しないこと。

*観察期間*

24. 観察期間の長さは、観察された作用の大きさおよび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、動物が重度の疼痛や苦痛の徴候を示す場合は、いずれの時点であれ実験を終了する(8)。作用の可逆性を決定するためには、被験物質の投与後に動物を通常 21 日間観察する。可逆性が 21 日以前に見られた場合は、実験をその時点で終了する。

*臨床観察および眼反応のグレード付け*

25. TSA から 1 時間後、眼病変の有無について両眼を包括的に評価し、その後少なくとも 1 日 1 回評価すべきである。最初の 3 日間は 1 日数回動物を評価し、終了の判断時期を逃さないよう徹底すること。供試動物の疼痛や苦痛の臨床徴候（たとえば眼を繰り返し掻いたりこすったりする、過剰なまばたき、過剰な涙）(9)(10)(11)については定常的に評価し、試験期間全体を通じ 1 日 2 回以上、最低 6 時間の観察間隔または必要であればより頻回に実施する。こうしたことは、(i)鎮痛剤の増量の必要性について情報に基づいた判断を行うため、動物の疼痛および苦痛の証拠を適切に評価し、(ii)動物の人道的安楽死が妥当か否か情報に基づいて判断し、その判断を時宜に即して行うよう徹底するため、既に確立された人道的観点の証拠について動物を評価するのに必要とされる。適切であると考えられる場合（たとえば角膜潰瘍存在時の傷害深度を評価する場合）には、フルオレセイン染色および細隙灯顕微鏡を眼損傷の検出および測定の補助として、また人道的安楽死について既に確立された観点の基準が満たされているか評価するため、定常的に用いるべきである。認められた病変については、参照のため、また眼損傷の程度を永久に記録するため、そのデジタル写真を収集してもよい。一旦最終的な情報が得られたら、動物を必要以上に試験に留めておかないこと。重度の疼痛や苦痛を示す動物は人道的に直ちに屠殺し、物質は相応に評価する。



© OECD, (2017)

26. 滴下後に下記の眼病変を示す動物は人道的に屠殺する（病変のグレードの記載については表 1 参照）。すなわち、角膜穿孔またはぶどう腫を含む重度の角膜潰瘍、前眼房出血、グレード 4 の角膜混濁、72 時間持続する光反射消失（虹彩応答グレード 2）、結膜の潰瘍、結膜または瞬膜の壊死、または皮膚剥落である。これは、そのような病変が一般的に不可逆性であるためである。さらに、下記の眼病変については、予定された 21 日間の観察期間終了前に、試験終了の人道的観点として用いることが推奨される。すなわち、当該病変である重度の傷害深度（たとえば角膜実質表層を超え拡大した角膜潰瘍）、50%超の角膜縁の破壊（結膜組織の白化により証明）、重度の眼感染症（膿性分泌物）は、重度の刺激性または腐食性が予測される傷害であり、21 日間の観察期間終了までに完全な回復が期待されるとは限らない傷害であるとみなされる。また、角膜表面の血管新生（すなわちパンヌス）、毎日の評価に基づいて経時的に減少しないフルオレセイン染色範囲、あるいは被験物質適用から 5 日後の上皮再形成の欠如を併発した場合も、早期試験終了の臨床判断に影響を及ぼす可能性がある有用な基準であると考えられる。しかし、これらの所見を個別に見ると、早期試験終了を正当化するには不十分である。一旦眼に対する重度の作用が特定されたら、これらの作用の併発により早期試験終了が必要であるか判断するため、こうした臨床病変特定の訓練を受けた選任または資格を有する実験動物獣医師または職員に臨床検査について相談すべきである。被験物質適用後 1、24、48、72 時間に眼反応（結膜、角膜、および虹彩）のグレードを記録する（表 1）。眼病変を生じない動物は、滴下から 3 日目以降終了してもよい。重度でない眼病変を有する動物は病変が消失するまで、または試験終了時点の 21 日まで観察する。病変の状態およびその可逆性または不可逆性を決定するために、観察は最低 1 時間、24 時間、48 時間、72 時間、7 日、14 日、21 日後に実施および記録する。供試動物を人道的考慮から安楽死させるべきか、あるいは結果が陰性であるため試験から除外すべきか判断するため、必要であればより頻回に観察を実施する。

27. 眼病変のグレード（表 1）を各試験で記録する。それ以外の眼病変（たとえばパンヌス、染色、前眼房の変化）や全身性有害作用もまた報告する。

28. 反応の検査は、双眼ルーペ、手動スリットランプ、生体顕微鏡または他の適切な器具の使用によって円滑化することができる。24 時間目の観察を記録後、フルオレセインを用いて眼をさらに検査してもよい。

29. 眼反応のグレードは必然的に主観的となる。眼反応のグレード付け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について観察を行う人員を適切に訓練する必要がある。



© OECD, (2017)

**データおよび報告**

*結果の評価*

30. 眼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に関して評価する。被験物質の別の作用もまた評価されるため、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。その代わり個別スコアは参照値とみなすべきであり、すべての観察結果の完全な記載および評価によって裏づけられる場合にのみ意味がある。

*試験報告書*

31. 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
– 得られた結果を含む、実施した *in vivo* 皮膚刺激性／腐食性試験の記載
– *In vivo* 試験を実施するための証拠の重み分析

被験物質

– 特定データ（たとえば化学名、および入手可能であれば CAS 番号、純度、既知不純物、入手先、ロット番号）
– 物理的性質および物理化学的特性（たとえば pH、揮発性、溶解性、安定性、水との反応性）
– 混合物の場合は、構成する物質（たとえば化学名、および入手可能であれば CAS 番号）の特定データならびにその濃度などにより構成成分を特定すること。
– 適用量

溶媒

– 特定データ、濃度（必要に応じて）、使用容量
– 溶媒選択の妥当性

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
– 試験開始時の各個体の年齢
– 試験群および対照群の性別ごとの動物数（必要に応じて）
– 試験開始時および終了時の個体ごとの体重
– 供給元、飼育条件、飼料など

麻酔剤および鎮痛剤



**© OECD, (2017)**

– 局所麻酔剤および全身鎮痛剤を投与した場合、その用量および時間
– 局所麻酔剤を用いる場合、特定データ、純度、タイプ、被験物質との相互作用の可能性

結果

– 各測定時点で刺激性を採点するのに用いた方法の記載（たとえば、手動スリットランプ、生体顕微鏡、フルオレセイン）
– 試験から各個体を除外するまでの、各測定時点における各個体についての刺激性／腐食性応答データの表
– 観察された刺激または腐食の程度および性質の説明的記載
– 観察された何らかの他の眼病変の記載（たとえば、血管新生、パンヌス形成、癒着、染色）
– もしあれば、眼以外の局所および全身有害作用、疼痛および苦痛の臨床徴候の記録、デジタル写真および病理組織学的所見の記載

結果の考察

*結果の解釈*

32. 実験動物での眼刺激試験の結果のヒトへの外挿が有効な場合は、限られている。多くの場合、アルビノウサギは眼刺激性物質または眼腐食性物質に対してヒトよりも感受性が高い。

33. 二次感染の結果として生じる刺激を除外するために、データの解釈には注意する。



© OECD, (2012)

**LITERATURE**

(1) Barratt, M.D., *et al.* (1995), The Integrated Use of Alternative Approaches for Predicting Toxic Hazard, ECVAM Workshop Report 8, ATLA 23, 410 - 429.

(2) de Silva, O., *et al.* (1997), Evaluation of Eye Irritation Potential: Statistical Analysis and Tier Testing Strategies, Food Chem. Toxicol 35, 159 - 164.

(3) Worth A.P. and Fentem J.H. (1999), A general approach for evaluating stepwise testing strategies ATLA 27, 161-177.

(4) Young, J.R., *et al.* (1988), Classification as Corrosive or Irritant to Skin of Preparations Containing Acidic or Alkaline Substance Without Testing on Animals, Toxicol. *In Vitro*, 2, 19 - 26.

(5) Neun, D.J. (1993), Effects of Alkalinity on the Eye Irritation Potential of Solutions Prepared at a Single pH, J. Toxicol. Cut. Ocular Toxicol. 12, 227 - 231.

(6) Fentem, J.H., *et al.* (1998), The ECVAM international validation study on in vitro tests for skin corrosivity. 2. Results and evaluation by the Management Team, Toxicology in Vitro 12, pp.483 – 524.

(7) OECD (2002), *Test No. 404: Acute Dermal Irritation/Corrosion*, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing. doi: 10.1787/9789264070622-en

(8) OECD (2000), Guidance Document on the Recognition, Assessment and Use of Clinical Signs as Humane Endpoints for Experimental Animals Used in Safety Evaluation. OECD Environmental Health and Safety Publications, Series on Testing and Assessment No. 19, (http://www.oecd.org/ehs/test/monos.htm ).

(9) Wright EM, Marcella KL, Woodson JF. (1985), Animal pain: evaluation and control, Lab Animal, May/June:20-36.

(10) National Research Council (NRC) (2008), Recognition and Alleviation of Distress in Laboratory Animals, Washington, DC: The National Academies Press.

(11) National Research Council (NRC) (2009), Recognition and Alleviation of Pain in Laboratory Animals, Washington, DC: The National Academies Press.

(12) ICCVAM (2010), ICCVAM Test Method Evaluation Report: Recommendations for Routine Use of Topical Anesthetics, Systemic Analgesics, and Humane Endpoints to Avoid or Minimize Pain and Distress in Ocular Safety Testing, NIH Publication No. 10-7514, Research Triangle Park, NC, USA: National Institute of Environmental Health Sciences. Available: http://iccvam.niehs.nih.gov/methods/ocutox/OcuAnest-TMER.htm

(13) OECD (2004), *Test No. 430: In Vitro Skin Corrosion: Transcutaneous Electrical Resistance Test (TER)*, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing. doi: 10.1787/9789264071124-en

(14) OECD (2004), *Test No. 431: In Vitro Skin Corrosion: Human Skin Model Test*, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing. doi: 10.1787/9789264071148-en

(15) OECD (2004), *Test No. 431: In Vitro Skin Corrosion: Human Skin Model Test*, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing. doi: 10.1787/9789264071148-en

(16) OECD (2009),*Test No. 437: Bovine Corneal Opacity and Permeability Test Method for Identifying Ocular Corrosives and Severe Irritants*, OECD Guidelines for the Testing of



© OECD, (2017)

Chemicals, Section 4, OECD Publishing.

doi: 10.1787/9789264076303-en

(17) OECD (2009b), Isolated Chicken Eye Test Method for Identifying Ocular Corrosives and Severe Irritants, Test Guideline No. 438, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, OECD, Paris

(18) U.S. EPA (2003), Label Review Manual: 3rd Edition, EPA737-B-96-001, Washington, DC: U.S., Environmental Protection Agency.

(19) UN (2011), Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS), Fourth revised edition, New York & Geneva: United Nations Publications.

(20) EC (2008), Regulation (EC) No. 1272/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on Classification, Labelling and Packaging of Substances and Mixtures, amending and repealing Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC, and amending Regulation (EC) No. 1907/2006. Official Journal of the European Union L353, 1-1355.

(21) OECD (2017). Guidance Document on an Integrated Approaches on Testing and Assessment for Serious Eye Damage and Eye irritation. Series on Testing and Assessment No.263. ENV Publications, Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris.



© OECD, (2017)

**表 1：眼病変のグレード付け**

| 角膜 | グレード |
|---|---|
| 混濁：濃さの程度（最も濃い部分から読み取る）* | 潰瘍または混濁なし 0 |
| 散在性またはびまん性の混濁部分（正常な光沢の軽度な曇りを除く）、虹彩細部は明瞭 | 1 |
| 容易に識別可能な半透明部分、虹彩細部はやや不明瞭 | 2 |
| 真珠様光沢部位、虹彩細部は不明、瞳孔の大きさがかろうじて識別可 | 3 |
| 角膜混濁、混濁により虹彩の識別不可 | 4 |
| 可能性としての最大値：4 | |
| *角膜混濁の範囲を記録する | |

| 虹彩 | 正 |
|---|---|
| 常 | 0 |
| 明瞭に深化した皺、鬱血、腫脹、中等度の角膜周辺充血；または充血；虹彩は光に反応（緩慢な反応は作用と考えられる） | 1 |
| 出血、肉眼的損傷、または対光反応消失 | 2 |
| 可能性としての最大値：2 | |

**結膜** 発赤（眼瞼および眼球結膜について、角膜および虹彩は除く）

| | |
|---|---|
| 正常 | 0 |
| 一部血管の充血（鬱血） | 1 |
| びまん性の濃赤色；個々の血管が容易に識別できない | 2 |
| びまん性の肉赤色 | 3 |
| 可能性としての最大値：3 | |

**結膜浮腫** 膨張（瞼や瞬膜について）

| | |
|---|---|
| 正常 | 0 |
| 正常を超える多少の膨張 | 1 |
| 明瞭な膨張、瞼の一部外転 | 2 |
| 膨張、瞼の約半分が閉じる | 3 |
| 膨張、瞼が半分を超えて閉じる | 4 |
| 可能性としての最大値：4 | |



© OECD, (2017)

**補遺 定**

**義**

1. 酸予備／アルカリ予備：酸性試料の場合、酸予備とは酸性試料 100g を特定の pH にするために必要な水酸化ナトリウムの量（g）である。アルカリ性試料の場合、アルカリ予備とはアルカリ性試料 100g を特定の pH にするために必要な硫酸の量（g）に相当する水酸化ナトリウムの量（g）である（Young et al. 1988）。

2. 非刺激性物質：米国環境保護庁（EPA）カテゴリーI、II、III の眼刺激性物質、化学品の分類および表示に関する世界調和システム（GHS）の眼刺激性物質カテゴリー1、2、2A、2B、EU のカテゴリー1、2 に分類されない物質(18)(19)(20)。

3. 眼腐食性物質：(a) 不可逆性の眼組織損傷をもたらす物質。(b) GHS の眼刺激性物質カテゴリー1、または EPA カテゴリーI の眼刺激性物質、または EU のカテゴリー1 に分類される物質(18)(19)(20)。

4. 眼刺激性物質：(a)眼に可逆的変化をもたらす物質。(b) EPA カテゴリーII、III の眼刺激性物質、または GHS の眼刺激性物質カテゴリー2、2A、2B、または EU のカテゴリー2 に分類される物質(18)(19)(20)。

5. 重度の眼刺激性物質：(a)適用後 21 日以内に消失しない眼組織損傷、または身体的に深刻な視力低下をもたらす物質。(b) GHS の眼刺激性物質カテゴリー1、または EPA カテゴリーI の眼刺激性物質、または EU のカテゴリー1 に分類される物質(18)(19)(20)。

6. 階層的試験戦略：被験物質に関する既存の情報をすべて検討する場合、指定された順番で各段階の証拠の重みプロセスを用いて、危険有害性分類の判定に十分な情報が得られているか判断してから、次の段階に進む階層的な試験実施戦略。既存の情報に基づいて被験物質が刺激物の可能性ありとみなせる場合、追加的な試験は必要とされない。既存の情報に基づいて被験物質が刺激物の可能性ありとみなせない場合、明確な分類を行えるまで、動物を用いた階層的な連続試験の手順が実施される。

7. 証拠の重み付け（プロセス）：収集した情報の強弱は、個々のデータからは明らかにされないと考えられる結論を導く基準として用いられる。



© OECD, (2017)

## 試験ガイドライン 405 への追補

## 眼刺激性および腐食性のための連続的試験戦略

### 全般的考察

1. 健全な科学および動物福祉の両方の利益のために動物の不必要な使用を避けること、および動物に重度の反応を生じる可能性が高い試験を最小化することが重要である。*In vivo* 試験を考慮する前に、物質の潜在的眼刺激性／腐食性に関するすべての情報を評価すべきである。実験動物で試験を実施する必要がなく、眼刺激または腐食潜在性に関して被験物質を分類するために十分な証拠が既に存在する可能性がある。したがって、証拠の重み分析および連続的試験戦略を用いると、特に物質が重度の反応を生じる可能性が高い場合、*in vivo* 試験の必要性を最小化することになる。

2. 物質の眼刺激性および腐食性に関する既存の情報を評価し、そのような潜在性を特徴づけるのを助け、*in vivo* 眼試験以外の追加試験を実施すべきかどうかを決定するため証拠の重み分析を使用することが推奨される。さらに試験が必要である場合は、関係する実験データを得るために連続的試験戦略を用いることが推奨される。試験歴のない物質については、物質の眼腐食性／刺激性の評価に必要なデータを得るために連続的試験戦略を利用すべきである。この追補に記載されている試験戦略は、OECD ワークショップ(1)にて初めて開発された。それは 1998 年 11 月に第 28 回化学品委員会および化学品作業部会統合会議によって承認された通り、ヒトの健康および環境作用に関する化学品の調和統合危険有害性分類システム（Harmonised Integrated Hazard Classification System for Human Health and Environmental Effects of Chemical Substances）で後に確認および拡充され(2)、2011 年、OECD の専門家グループにより更新された。

3. この試験戦略は試験ガイドライン 405 の一体化された一部ではないが、眼刺激性／腐食性決定のため推奨される手法を示す。この手法は、*in vivo* 眼刺激性／腐食性試験の最良の手順および倫理的基準を示す。本ガイドラインは *in vivo* 試験の実施のための手引きを提供し、そのような試験を検討する前に対処すべき因子を要約する。連続的試験戦略は、物質の眼刺激性／腐食性に関する既存データの評価のための証拠の重み手法、および追加試験が必要であるか、または試験が実施されていない物質について関連データ生成の階層的手法を提供する。当該戦略は､特定の状況下ではまず有効性を評価され容認された *in vitro* または *ex vivo* 試験、次いでガイドライン 404 皮膚刺激性／腐食性試験の実施を含む(3)(4)。



**© OECD, (2017)**

**連続的試験戦略の記載**

4. 連続的試験戦略（図）の一部として試験を行う前に、*in vivo* 眼試験の必要性を決定するためにすべての利用可能な情報を評価する。重要な情報が単一パラメーターの評価から得られる可能性はあるが（たとえば、極端な pH）、既存の情報全体を評価すべきである。証拠の重み分析の決定を行うに当たっては、問題の物質およびその構造類縁物質の作用に関するすべての関連データを評価し、その決定の妥当性を示すべきである。主要な重点は物質についての既存のヒトおよび動物データに置かれ、次いで *in vitro* または *ex vivo* 試験の結果に置かれる。腐食性物質の *in vivo* 試験は、可能な限り回避する。試験戦略で考慮される因子は、下記を含む。

5. 既存のヒトや動物データ、ならびに有効性を評価され国際的に容認された方法による *in vitro* データの評価（段階 1）。たとえば、臨床試験または職業に関する試験および症例報告といった既存のヒトデータや眼試験に由来する動物試験データならびに眼刺激性／腐食性について有効性を評価され、国際的に容認された方法による *in vitro* データをまず考察する。なぜならそれらは眼に対する作用に直接関係する情報を提供するからである。その後に、皮膚腐食性／刺激性を検討したヒトや動物による試験、ならびに皮膚腐食性について有効性を評価され、国際的に容認された方法による *in vitro* 試験から利用可能なデータを評価すべきである。眼への腐食性または重度の刺激性を有する既知の物質も、皮膚に対して腐食性または重度の刺激性作用を示す物質も、動物に点眼してはならない。後者の物質は眼に対しても同様に腐食性あるいは刺激性であると考えるべきである。以前に実施された眼試験における非腐食性および非刺激性の十分な証拠を有する物質もまた、*in vivo* 眼試験で試験してはならない。

6. 構造活性相関（SAR）の分析（段階 2）。利用可能であれば、構造的に関連する化学物質の試験結果を考慮すべきである。構造的に関連する物質またはそのような物質の混合物について、その眼腐食／刺激潜在性を示すために十分なヒトや動物データを利用可能である場合、被験物質が同様の反応を生じると推定することができる。それらの場合には、被験物質を試験する必要がないと考えられる。構造的に関連する物質またはそのような物質の混合物の試験からの陰性データは、連続的試験手法下にある物質の非腐食性／非刺激性の十分な証拠にはならない。皮膚および眼作用両方の腐食および刺激潜在性を特定するため、有効性を評価され容認された SAR 手法を使用する。

7. 物理化学的特性および化学反応性（段階 3）。たとえば 2.0 以下または 11.5 以上の極端な pH を示す物質は、強い局所作用を有する可能性がある。極端な pH が物質の眼腐食性または刺激性の特定基準であるならば、その酸／アルカリ予備（緩衝能）もまた考慮することが考えられる(5)(6)(7)。緩衝能から、物質が眼に対して腐食性ではない（すなわち極端な pH で低い酸／アルカリ予備の物質である）可能性が示唆されるならば、これを確認するために、望ま



© OECD, (2017)

しくは有効性を評価され容認された *in vitro* または *ex vivo* 試験による追加試験を行う（段落 10 参照）。

8. 他の既存情報の考察（段階 4）。皮膚経路からの全身毒性についてのすべての利用可能な情報を、この段階で評価する。被験物質の急性皮膚毒性もまた考察する。被験物質が皮膚経路によって高毒性であることが示されている場合は、眼で試験する必要はないと考えられる。急性皮膚毒性と眼刺激性／腐食性との間に必ずしも関係はないが、ある物質が皮膚経路において高毒性である場合、それは点眼された場合にもまた高毒性を示すと仮定できる。そのようなデータは、段階 2 と 3 の間にもまた考察されるかもしれない。

9. 規制上の目的でも必要とされた場合の被験物質による皮膚腐食性の評価（段階 5）。皮膚腐食性および重度の刺激潜在性は、有効性を評価され国際的に容認された *in vitro* 皮膚腐食性試験法の使用(9)(10)(11)など、ガイドライン 404(4)および添付追補(8)に従って、まず評価する。被験物質が腐食性または重度の皮膚刺激性をもたらすことが認められた場合、眼に対しても腐食性または重度の刺激性があるとみなせる。したがって、さらに試験を行う必要はないと考えられる。被験物質が皮膚に腐食性も重度の刺激性ももたらさなければ、*in vitro* または *ex vivo* 眼試験を実施すべきである。

10. *In vitro* または *ex vivo* 試験からの結果（段階 6）。特に眼腐食性／刺激性の評価のために有効性を評価され国際的に容認された *in vitro* または *ex vivo* 試験(12)(13)において腐食性または重度の刺激性を実証された物質は、動物で試験する必要はない。そのような物質は、*in vivo* でも同様の重度の作用を生じると推定できる。有効性を評価され容認された *in vitro*／*ex vivo* 試験が利用できない場合は、段階 6 を飛ばして段階 7 へ直接進む。

11. ウサギでの *in vivo* 試験（段階 7 および 8）。*In vivo* 眼試験は、動物 1 例を用いる初回試験から始める。この試験結果で当該物質が眼に重度の刺激性または腐食性を示す場合、さらに試験は実施しない。その試験で腐食作用も重度の刺激作用も示さない場合は、2 例の追加動物を用いて確認試験を実施する。確認試験の結果に応じて、さらに試験の必要が生じる場合がある（試験ガイドライン 405 参照）。



© OECD, (2017)

**LITERATURE**

(1) OECD (1996) OECD Test Guidelines Programme: Final Report of the OECD Workshop on Harmonization of Validation and Acceptance Criteria for Alternative Toxicological Test Methods. Held in Solna, Sweden, 22 - 24 January 1996 (http://www.oecd.org/ehs/test/background.htm).

(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) Worth, A.P. and Fentem J.H. (1999). A General Approach for Evaluating Stepwise Testing Strategies. ATLA 27, 161-177.

(4) OECD (2002), *Test No. 404: Acute Dermal Irritation/Corrosion*, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing. doi: 10.1787/9789264070622-en

(5) Young, J.R., How, M.J., Walker, A.P., Worth W.M.H. (1988) Classification as Corrosive or Irritant to Skin of Preparations Containing Acidic or Alkaline Substance Without Testing on Animals. Toxicol. *In Vitro*, 2, 19 - 26.

(6) Fentem, J.H., Archer, G.E.B., Balls, M., Botham, P.A., Curren, R.D., Earl, L.K., Edsail, D.J., Holzhutter, H.G. and Liebsch, M. (1998) The ECVAM international validation study on in vitro tests for skin corrosivity. 2. Results and evaluation by the Management Team. Toxicology in Vitro 12, pp.483 – 524.

(7) Neun, D.J. (1993) Effects of Alkalinity on the Eye Irritation Potential of Solutions Prepared at a Single pH. J. Toxicol. Cut. Ocular Toxicol. 12, 227 - 231.

(8) OECD (2001) Supplement to Test Guideline 404: A Sequential Testing Strategy for Skin Irritation and Corrosion.

(9) OECD (2004), *Test No. 430: In Vitro Skin Corrosion: Transcutaneous Electrical Resistance Test (TER)*, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing. doi: 10.1787/9789264071124-en

(10) OECD (2004), *Test No. 431: In Vitro Skin Corrosion: Human Skin Model Test*, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing. doi: 10.1787/9789264071148-en

(11) OECD (2004), *Test No. 431: In Vitro Skin Corrosion: Human Skin Model Test*, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing. doi: 10.1787/9789264071148-en



© OECD, (2017)

(12) OECD (2009),*Test No. 437: Bovine Corneal Opacity and Permeability Test Method for Identifying Ocular Corrosives and Severe Irritants*, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing. doi: 10.1787/9789264076303-en

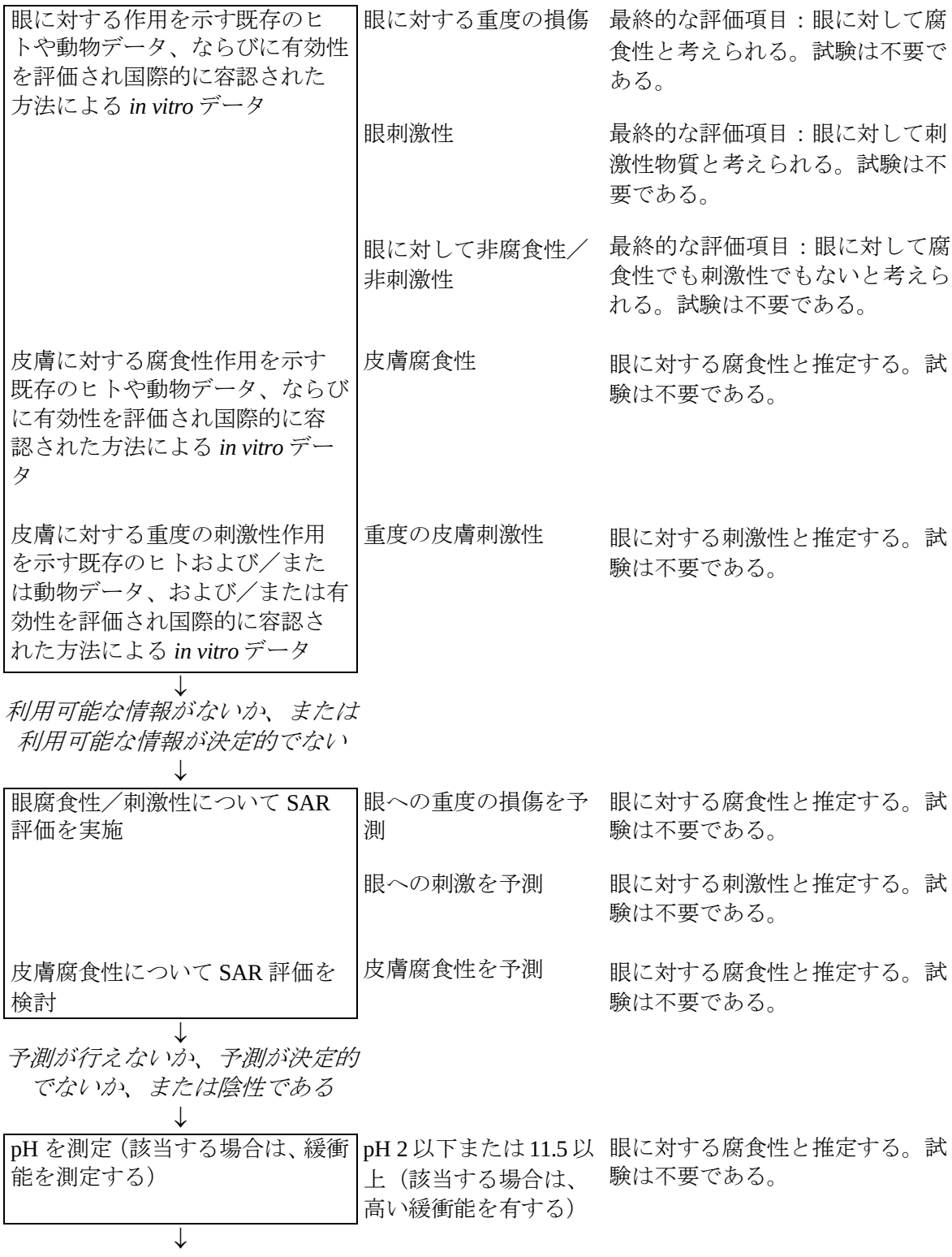
(13) OECD (2009b), Isolated Chicken Eye Test Method for Identifying Ocular Corrosives and Severe Irritants, Test Guideline No. 438, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, OECD, Paris



© OECD, (2017)

図

眼刺激性／腐食性のための試験および評価戦略






© OECD, (2017)

*2＜pH＜11.5、あるいは pH≦2.0 または≧11.5 で、該当する場合は緩衝能が小さいか、またはない*

↓

| | | | |
|---|---|---|---|
| 4 | 皮膚経路からの既存の全身毒性データを検討 | 眼で試験され得る濃度で高毒性 | 物質は毒性が高すぎて試験できないと考えられる。試験は不要である。 |

↓

*そのような情報が利用可能でないか、または物質が高毒性でない*

↓

| | | | |
|---|---|---|---|
| 5 | 規制上の目的でも必要とされた場合、OECD ガイドライン 404 の試験戦略に従って、皮膚腐食潜在性を実験的に評価 | 腐食性または重度の刺激性反応 | 眼に対する腐食性と推定する。その後の試験は不要である。 |

↓

*物質が、皮膚に対して腐食性でも重度の刺激性でもない*

↓

| | | | |
|---|---|---|---|
| 6 | 有効性を評価され容認された *in vitro* または *ex vivo* 眼試験を実施 | 腐食性または重度の刺激性反応 | 実施試験を腐食性物質／重度の刺激性物質の特定に用いることができ、被験物質が実施試験の適用領域内にある場合、眼に対する腐食性または重度の刺激性と推定する。その後の試験は不要である。 |
| | | 刺激性反応 | 実施試験を腐食性物質、重度の刺激性物質、および刺激性物質の正確な特定に用いることができ、被験物質が実施試験の適用領域内にある場合、眼に対する刺激性と推定する。その後の試験は不要である。 |
| | | 刺激性反応なし | 実施試験を非刺激性物質の正確な特定に用いることができ、非刺激性物質を刺激性物質、重度の刺激性物質、眼腐食性物質から正確に区別でき、被験物質が実施試験の適用領域内にある場合、眼に対する非刺激性と推定する。その後の試験は不要である。 |

↓

*有効性を評価され容認された in vitro または ex vivo 眼試験を用いても、結論に達せない*

↓

| | | | |
|---|---|---|---|
| 7 | ウサギ 1 例を用いて、初回 *in vivo* 眼試験を実施 | 眼への重度の損傷 | 眼に対して腐食性と考えられる。その後の試験は不要である。 |

↓



**© OECD, (2012)**

*重度の損傷がないか、または反応がない*

↓

| | | | |
|---|---|---|---|
| 8 | 1または2例の追加動物を用いて、確認試験を実施 | 腐食性または刺激性 | 眼に対して腐食性または刺激性と考えられる。その後の試験は不要である。 |
| | | 腐食性でも刺激性でもない | 眼に対して刺激性でも腐食性でもないと考えられる。その後の試験は不要である。 |



© OECD, (2012)