OECD/OCDE

2022/06/30

試験ガイドライン No.467

重篤な眼損傷性および眼刺激性に関する確定方式

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 (2022), Test No. 467: Defined Approaches for Serious Eye Damage and Eye Irritation, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, https://www.oecd.org/content/dam/oecd/en/publications/reports/2024/10/replaced-and-deleted-test-guidelines-2024/TG-467-serious-eye-damage-and-eye-irritation-2022.pdf.

©OECD (2022)

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

OECD/OCDE 467

2022 年 6 月 30 日
採択

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

重篤な眼損傷性および眼刺激性に関する確定方式

© OECD, (2022)

本資料は、http://www.oecd.org/termsandconditions/で入手可能な条項および条件に従って自由に使用できる。

目次

1. はじめに 3
1.1. 一般的な背景 3
1.2. 本ガイドラインに含まれる DA および使用シナリオ 5
1.3. 性能および適用可能性 6
1.3.1. DA および DA 個々の構成要素の適用領域 8
1.3.2. DA の不確実性 8
1.4. 参考文献 9
2. パート I—非界面活性剤原液を対象とし、物理化学的特性および *in vitro* データに基づいた確定方式 1（DAL-1） 11
2.1. DAL-1 11
2.1.1. 要約 11
2.1.2. データ解釈手順 11
2.1.3. 個々の情報源の説明および限界 15
2.1.4. DAL-1 関連の試験ガイドラインにおける境界線上の結果の処理手順 15
2.1.5. ドレイズ眼刺激性試験と比較した VRM1 による DAL-1 の予測能 16
2.1.6. ドレイズ眼刺激性試験と比較した VRM2 による DAL-1 の予測能 16
2.1.7. 習熟度の立証 17
2.1.8. DA の報告 17
2.2. 参考文献 18
3. パート II—非界面活性剤の原液、液体、および水に溶解した固体を対象とし、*in vitro* データに基づいた確定方式 2（DAL-2） 19
3.1. DAL-2 19
3.1.1. 要約 19
3.1.2. データ解釈手順 19
3.1.3. 個々の情報源の説明および限界 22
3.1.4. DAL-2 予測結果関連の試験ガイドラインにおける境界線上の結果の処理手順 22
3.1.5. ドレイズ眼刺激性試験と比較した DAL-2 の予測能 22
3.1.6. 習熟度確認化学物質 23
3.1.7. DA の報告 23
3.2. 参考文献 24

表

表 1.1 本ガイドラインに掲載されている DA の概要—眼に対する危険有害性の特定 8
表 2.1. ドレイズ眼刺激性試験参照データと比較した VRM1 による DAL-1 の性能 16
表 2.2. ドレイズ眼刺激性試験参照データと比較した VRM2 による DAL-1 の性能 17
表 3.1. ドレイズ眼刺激性試験参照データと比較した DAL-2 の性能 23

図

図 2.1. DAL-1 選択肢 1 の模式図。第 1 ステップ—区分外を特定する物理化学的特性の除外ルール（WS：水溶性（単位：mg/mL）か、LogP：オクタノール／水分配係数、VP：蒸気圧（単位：mm Hg）、ST：原液の表面張力（単位：dyne/cm））。第 2 ステップ—区分外の特定に用いる RhCE 試験法。第 3 ステップ—区分 1 の特定に用いる BCOP LLBO。 13
図 2.2. DAL-1 選択肢 2 の模式図。第 1 ステップ—区分外の特定に用いる RhCE 試験法。第 2 ステップ—区分外を特定する物理化学的特性の除外ルール（WS：水溶性（単位：mg/mL）か、LogP：オクタノール／水分配係数、VP：蒸気圧（単位：mm Hg）、ST：原液の表面張力（単位：dyne/cm））。第 3 ステップ—区分 1 の特定に用いる BCOP LLBO。 14
図 3.1. DAL-2 選択肢 1 の模式図：STE 試験法から開始後、BCOP LLBO 試験法を実施 20
図 3.2. DAL-2 選択肢 2 の模式図：BCOP LLBO 試験法から開始後、STE 試験法を実施。 21

© OECD, (2022)

1. はじめに

1.1. 一般的な背景

1. 眼刺激性／重篤な眼損傷性の評価は、元来、ドレイズ眼刺激性試験法（OECD 試験ガイドライン 405）(1)に従ったアルビノウサギの使用と関わりがあった。被験化学物質に関する危険有害性の可能性は、当該物質が角膜混濁（CO）、虹彩炎（IR）、結膜発赤（CR）および結膜浮腫（CC）に及ぼす影響に基づいて判定された。影響の重大性および／またはその可逆性のタイミングに基づいて得られる分類は、国際連合（UN）の化学品の分類および表示に関する世界調和システム（GHS）(2)の定義による重篤な眼損傷性／眼刺激性の分類基準に基づいている。UN GHS の分類体系によれば、区分 1 は、眼に対する不可逆的影響（21 日以内での不完全な回復）／重篤な眼損傷性をもたらすことと定義される。区分 2 は、眼に対する可逆的影響（21 日以内での完全な回復）／眼刺激性をもたらすことと定義される。本区分は、任意の区分 2A（21 日以内に完全に回復する作用）および 2B（7 日以内に完全に回復する作用）に分類できる。区分 1 および区分 2 いずれの分類基準も満たさない場合、当該被験化学物質の分類は不要で、区分外に相当する。

2. 重篤な眼損傷性（UN GHS 区分 1）を誘発する被験化学物質の特定、あるいは、眼刺激性および重篤な眼損傷性の危険有害性の分類が不要な被験化学物質（UN GHS 区分外）の特定については、*in vitro* 試験法での試験ガイドライン（TG）の多くが採用しており、中でも明白なのは OECD TG 437、TG 438、TG 460、TG 491、TG 492、TG 494、および TG 496 (3, 4, 5, 6, 7, 8, 9)である。これらの *in vitro* 試験法での生成データの併用と共に、化学的類縁物質の物理化学的特性、*in silico* およびリードアクロスでの予測などを情報源とした生成データも、試験および評価に関する統合的アプローチ（IATA）または確定方式（DA）(10)の範囲内で併用することが提案されている。当該化学物質が、各分析法を用いた TG（TG 437、TG 491、TG 492）に詳述されうる方法の適用領域外にあると明らかに判明している場合には、個々の情報源から得られた結果を DA で用いることはできない。DA での予測は単独で使用でき、あるいは、IATA (10)の一環としてまたは適用可能な法的基準に従って、さらなる情報と併用できる。

3. *In vivo* ウサギ眼試験（TG 405）の完全な置き換えとなる単一の *in vitro* 試験法では、中間区分（UN GHS 区分 2）の予測がきわめて困難であるため、個々の *in vitro* 試験法の強度を組み合わせ、刺激性の可能性に必要な範囲に対処する試験戦略（例：トップダウン方式またはボトムアップ方式）を用いることが推奨される(11)。最も関連性の高い *in vivo* エンドポイント、特に角膜、虹彩、または結膜に及ぼす影響の判定は、*in vitro* データと *in vivo* データとの関係をより正確に理解可能にすることから、適切な *in vitro* 試験法の開発には重要である(12, 13)。こうした理由から、重篤な眼損傷性および眼刺激性試験に関する代替法および／または戦略(10)の開発、評価、および／またはバリデーション用参照化学物質を選択する場合、区分 1 および区分 2 の分類に最も重要な推進因子、ならびに、分類不要な化学物質の *in vivo* 作用の分布について考慮することが推奨される（*重篤な眼損傷性／眼刺激性の確定方式（DA）に関するガイドライン（GL）補足文書(21)*「*in vivo* 参照データ（ドレイズ眼刺激性試験）」参照）。

© OECD, (2022)

4. 眼刺激性の作用機序は大多数の化学物質で知ることができず、試験法および DA の評価へのさらなる洞察をもたらさないため、現行のガイドラインでは、DA での被験化学物質の分析について、DA は考慮されていない（より詳細な情報については、*重篤な眼損傷性／眼刺激性の確定方式（DA）に関するガイドライン（GL）補足文書(21)*段落 27 参照）。

5. DA では、複数の情報源の結果を併用することで、被験化学物質の眼に対する危険有害性の可能性を予測できる。DA は、一連の定められた情報源による生成データ（例：*in silico* 予測結果、*in chemico* データ、*in vitro* データ）に適用される不変のデータ解釈手順（DIP）（すなわち、数学的モデル、ルールベースの方式）からなり、専門家による判断の必要なしに予測を導く。得られた結果全体の信頼性向上のため、DA では、個別、単独での方法の限界の一部克服を目的として、複数の方法を併用する。DA は、眼の危険有害性の特定に使用可能な情報を提供する。

6. 試験実施施設は、DA に従い、試験実施前に被験化学物質について入手可能なすべての関連情報を考慮する。その情報には、例えば、被験化学物質の実体、化学構造、およびその物理化学的特性などが考えられる。特定の DA の下で OECD TG 個々の方法が当該被験化学物質に適用可能か否かを判断するため、そうした情報を考慮する。

7. *In vivo* ドレイズ眼刺激性試験、*in chemico* 試験、*in vitro* 試験、*in silico* 法、DA の結果およびその併用結果に基づいて危険有害性評価を実施する場合、常に同じ原則が適用される。すなわち、対象化学物質に関わる入手可能なすべての情報、また、入手可能であれば、構造的に関連する被験化学物質の毒性学的データについて考慮する。ただし、適切な法律の下での特定の規制要件を適用する。

8. 非界面活性剤液については、ルールベースの DA を 2 つ本 GL に記載し、その意図する規制目的（危険有害性の特定、すなわち、3 つの UN GHS 区分である「重篤な眼損傷性」の区分 1、「眼刺激性」の区分 2、ならびに、眼刺激性および重篤な眼損傷性に関する「分類および表示不要」な化学物質の区分外(2)間の識別）について説明する。DA の評価および検討については、*重篤な眼損傷性／眼刺激性の確定方式（DA）に関するガイドライン（GL）補足文書(21)*に詳述する。DA 予測結果、個々の情報源に関するデータ、きわめて精選されたドレイズ眼刺激性試験データ、および物理化学的特性からなる 86 種類以上の化学物質データセットを収集し、*重篤な眼損傷性／眼刺激性の確定方式（DA）に関するガイドライン（GL）補足文書(21)***補遺 B（スプレッドシート）**として添付する。この化学物質リストを用いて、DA の性能を評価した。一連の液体は様々な用途および化学物質クラスを網羅し、広範な有機官能基（79 種類）が OECD QSAR Toolbox による解析（バージョン 3.2；https://www.oecd.org/chemicalsafety/risk-assessment/oecd-qsar-toolbox.htm）に従って定義されている。

9. これらの化学物質が網羅する物理化学的特性により示されるとおり、本データセットは化学的に多様で、小分子および大分子に加え疎水性物質および親水性物質を包含する。参照データベースの化学的特性評価に関するさらなる詳細は、*重篤な眼損傷性／眼刺激性の確定方式（DA）に関するガイドライン（GL）補足文書(21)***第 5.1.2 項**から入手できる。

10. 今後の検討および承認後、別の DA を本 GL に記載する可能性がある。

© OECD, (2022)

1.2. 本ガイドラインに含まれる DA および使用シナリオ

11. 現在、本 GL に記載されている DA は、以下のとおりである。

- **パート I—**非界面活性剤原液を対象とし、物理化学的特性および *in vitro* データに基づいた眼に対する危険有害性の特定を目的とした確定方式 1（DAL-1）(14)。
- **パート II—**非界面活性剤の原液、液体、および水に溶解した固体を対象とし、*in vitro* データに基づいた眼に対する危険有害性の特定を目的とした確定方式 2（DAL-2）(15)。

12. 本 GL 記載の DAL-1 は、OECD TG 437 および TG 492 記載の試験法と、被験化学物質の物理化学的特性の併用に基づいている。一方、DAL-2 は、OECD TG 437 および TG 491 記載の試験法の併用に基づいている。DAL-1 および DAL-2 に用いる方法は、次の検証済みの試験法を包含する。OECD TG 437 によるレーザー光ベースのオパシトメータ（LLBO）[1]を使用したウシ角膜を用いる混濁度および透過性（BCOP）、OECD TG 492[2]による再構築ヒト角膜様上皮（RhCE）、ならびに OECD TG 491 による *in vitro* 短時間曝露（STE）。これらの試験法個々の技術移転性、試験実施施設内および施設間での再現性は、それぞれのバリデーション試験において評価されている(16, 17, 18, 19, 20)。

13. 本 GL 記載の DA は、重篤な眼損傷性（すなわち、UN GHS 区分 1）、眼刺激性（すなわち、UN GHS 区分 2）をもたらす化学物質、および分類不要な被験化学物質（すなわち、UN GHS 区分外）の特定に向け、複数の国の要件への対処にそれぞれ使用できるが、用いる DA により対処の性能に差が生じる（各 DA それぞれの説明において詳述）。

14. 本 GL 記載の DA は、区分 2A と 2B との識別のため設計されたものではない。

15. DA は、固体（すなわち、ピペットで扱えない被験物質）および界面活性剤には適用できない（さらなる詳細については、*重篤な眼損傷性／眼刺激性の確定方式（DA）に関するガイドライン（GL）補足文書(21)***第 2 項**参照）。

16. 3 つの UN GHS 区分間の識別に向け、本 GL 記載の VRM1 による DAL-1 の性能について、94 種類の液体（区分 1：17、区分 2：22、区分外：55）を用いて評価した。性能については、物理化学的特性、EpiOcular™ EIT 予測結果、BCOP LLBO 予測結果（*in vivo* 分類結果がすべて入手可能な一方、*in vivo* 区分外の物質 55 種類中 40 種類が欠測、段落 20 参照）、およびドレイズ眼刺激性試験データに基づく分類が入手可能である（さらなる詳細については、*重篤な眼損傷性／眼刺激性の確定方式（DA）に関するガイドライン（GL）補足文書(21)***第 2 項**および**補遺 B.3** 参照）。

17. 3 つの UN GHS 区分間の識別に向け、本 GL 記載の VRM2 による DAL-1 の

[1] ウシ角膜を用いる混濁度および透過性（BCOP）OP-KIT 試験法での DIP は、現 GL の許容基準を満たさなかったため、DAL-1 および DAL-2 では用いない（補足文書(21)補遺 A 参照）。

[2] DAL-1 の一部である OECD TG 492 の RhCE 法には、EpiOcular™ 眼刺激性試験（EIT）および SkinEthic™ ヒト角膜上皮（HCE）EIT があり、それぞれ「検証済み標準試験法」である EpiOcular™ EIT（VRM1）および SkinEthic™ HCE EIT（VRM2）と称される(7)。OECD TG 492 には他にも類似の方法が記載されているが、それらの方法のデータは有効性が不十分であるため、DAL-1 での分析には用いなかった。

© OECD, (2022)

性能について、86 種類の液体（区分 1：17、区分 2：23、区分外：46）を用いて評価した。性能については、物理化学的特性、SkinEthic™ HCE EIT 予測結果、BCOP LLBO 予測結果（*in vivo* 分類結果がすべて入手可能な一方、*in vivo* 区分外の物質 46 種類中 34 種類が欠測、段落 20 参照）、およびドレイズ眼刺激性試験データに基づく分類が入手可能である（さらなる詳細については、*重篤な眼損傷性／眼刺激性の確定方式（DA）に関するガイドライン（GL）補足文書(21)***第 2 項**および**補遺 B.3** 参照）。

18. 3 つの UN GHS 区分間の識別に向け、本 GL 記載の DAL-2 の性能について、164 種類の液体（区分 1：17、区分 2：24、区分外：123）を用いて評価した。性能については、STE 予測結果、BCOP LLBO 予測結果（*in vivo* 分類結果がすべて入手可能な一方、*in vivo* 区分外の物質 123 種類中 108 種類が欠測、段落 21 参照）、およびドレイズ眼刺激性試験データに基づく分類が入手可能である（さらなる詳細については、*重篤な眼損傷性／眼刺激性の確定方式（DA）に関するガイドライン（GL）補足文書(21)***第 2 項**および**補遺 B.3** 参照）。

19. BCOP LLBO 試験法の結果では、それぞれ設定された参照化学物質中に含まれる区分外の液体について、55 種類中 40 種類（DAL-1 VRM1）、46 種類中 34 種類（DAL-1 VRM2）、123 種類中 108 種類（DAL-2）が存在しない。DAL-1 および DAL-2 記載内容の範囲内では、区分 1 か区分 2 いずれかの予測結果に到達するには、BCOP LLBO データが必要であるが、区分外データを欠くと、必要な BCOP LLBO データが入手可能であったとしても、DA が *in vivo* 区分外の液体を区分 1 か区分 2 のいずれかと誤って予測したと考えられる度合いを定量化できないことを意味する。ただし、過去のデータ(20)では、22 種類の *in vivo* 区分外の液体のうち、BCOP LLBO データに基づいて区分 1 と誤って予測された液体はないことが認められた。さらに、区分外の固体 24 種類中 1 種類（4.2%）のみが誤って区分 1 と予測された。これらのデータから、BCOP LLBO により、区分外が区分 1 と誤って予測される可能性は低いと示唆される。

1.3. 性能および適用可能性

20. 1.3.1. DA の性能

© OECD, (2022)

21. 表 1**.1** に、本ガイドライン（GL）記載の DA の概要、DA について用いた情報源を示し、ドレイズ眼刺激性試験の参照データに対する DA の性能について要約する。さらなる詳細について、本 GL のパート I およびパート II、ならびに*重篤な眼損傷性／眼刺激性の確定方式（DA）に関するガイドライン（GL）補足文書(21)*に記載する。

22. UN GHS 分類（区分 1、区分 2、および区分外）に関する DA の性能について、ドレイズ眼刺激性試験の参照データと比較したところ、正確度は 69.2%（VRM1 による DAL-1）、75.2%（VRM2 による DAL-1）、74.3%（DAL-2）とバランスがとれていた。得られた区分 1 および区分 2 の正確度（正しい予測結果）に関する不確実性の度合いが、区分外の正確度に比べ高いことに留意されたい。これは、区分 1 および区分 2 の参照化学物質数がより少ないことに起因する。しかし、区分 1 または区分 2 の分類について入手可能なドレイズ眼刺激性試験結果の数が限られていたため、化学物質の数は増やせなかった。詳細な性能統計について、パート I およびパート II、ならびに*重篤な眼損傷性／眼刺激性の確定方式（DA）に関するガイドライン（GL）補足文書(21)***第 5 項**に報告する。

© OECD, (2022)

表 1.1　本ガイドラインに掲載されている DA の概要—眼に対する危険有害性の特定

DA	VRM1 による DAL-1 （N=94）	VRM2 による DAL-1 （N=86）	DAL-2 （N=164）
情報源	物理化学的特性、EpiOcular™ EIT（TG 492）、BCOP LLBO（TG 437）	物理化学的特性、SkinEthic™ HCE EIT（TG 492）、BCOP LLBO（TG 437）	STE（TG 491）、BCOP LLBO（TG 437）
ドレイズ眼刺激性試験との比較による性能（正しい分類）	区分外：70.5%（N=55） 区分 2：59.1%（N=22） 区分 1：76.5%（N=17）	区分外：79.7%（N=46） 区分 2：68.7%（N=23） 区分 1：76.5%（N=17）	区分外：85.3%（N=123） 区分 2：56.3%（N=24） 区分 1：81.2%（N=17）

注：性能に関しては、正確度は各 UN GHS 区分内の正しい分類率を示す。

1.3.1. DA および DA 個々の構成要素の適用領域

23.　DAL-1 は、界面活性剤および固体には適用できない。DAL-1 は、混合物、UVCB（組成が未知または変化する物質、複雑な反応生成物または生物材料）、および多成分物質を除く原液に適用できる。濃度 5%超かつ 20%未満の不純物については、その不純物の物理化学的特性の判定も必要であり、すべての成分が除外基準を満たす場合のみ当該の液体は区分外と予測され、それ以外の場合にはすべて RhCE 試験法を進める。

24.　DAL-2 は、界面活性剤および水中に分散した固体には適用できない。DAL-2 は、非界面活性剤の原液、液体、および水に溶解した固体に適用できる。

25.　新たなデータが入手可能になると改訂される TG のそれぞれについて、使用者は、規定されている個々の *in vitro* 試験法の限界を参照し、定期的に助言を受ける。発行された各 TG の最新版を常に使用すること。それぞれの GL に規定されている物理化学的特性の測定について、使用者は、個々の方法の限界も参照する。

1.3.2. DA の不確実性

26.　DA 予測結果の信頼性を判断する情報源個々の結果について承認する場合、その詳細を**第 2.1.4 項**および**第 3.1.4 項**ならびに各 TG（TG 437、TG 491、TG 492）(3, 6, 7)に示す。

© OECD, (2022)

1.4. 参考文献

(1) OECD (2020), OECD Guidelines for the Testing of Chemicals No. 405: Acute Eye Irritation/Corrosion, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, https://doi.org/10.1787/9789264185333-en.

(2) United Nations (UN) (2021). Globally Harmonized System of Classification and Labelling of Chemicals (GHS). Ninth revised edition, New York and Geneva, United Nations Publications. Available at: [https://unece.org/sites/default/files/2021-09/GHS_Rev9E_0.pdf]

(3) OECD (2020), OECD Guidelines for the Testing of Chemicals No. 437: 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, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, https://doi.org/10.1787/9789264203846-en.

(4) OECD (2018), OECD Guidelines for the Testing of Chemicals No. 438: Isolated Chicken Eye Test Method for Identifying i) Chemicals Inducing Serious Eye Damage and ii) Chemicals Not Requiring Classification for Eye Irritation or Serious Eye Damage, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, https://doi.org/10.1787/9789264203860-en.

(5) OECD (2017), OECD Guidelines for the Testing of Chemicals No. 460: Fluorescein Leakage Test Method for Identifying Ocular Corrosives and Severe Irritants, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, https://doi.org/10.1787/9789264185401-en.

(6) OECD (2020), OECD Guidelines for the Testing of Chemicals No. 491: Short Time Exposure In Vitro Test Method for Identifying i) Chemicals Inducing Serious Eye Damage and ii) Chemicals Not Requiring Classification for Eye Irritation or Serious Eye Damage, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, https://doi.org/10.1787/9789264242432-en.

(7) OECD (2019), OECD Guidelines for the Testing of Chemicals No. 492: Reconstructed human Cornea-like Epithelium (RhCE) test method for identifying chemicals not requiring classification and labelling for eye irritation or serious eye damage, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, https://doi.org/10.1787/9789264242548-en.

(8) OECD (2019), OECD Guidelines for the Testing of Chemicals No. 494: Vitrigel-Eye Irritancy Test Method for Identifying Chemicals Not Requiring Classification and Labelling for Eye Irritation or Serious Eye Damage, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, https://doi.org/10.1787/9f20068a-en.

(9) OECD (2019), OECD Guidelines for the Testing of Chemicals No. 496: In vitro Macromolecular Test Method for Identifying Chemicals Inducing Serious Eye Damage and Chemicals Not Requiring Classification for Eye Irritation or Serious Eye Damage, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, https://doi.org/10.1787/970e5cd9-en.

(10) OECD (2019). Series on Testing & Assessment No. 263: Guidance Document On Integrated Approaches to testing and assessment (IATA) for serious eye damage and eye irritation. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris. Available at: [https://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/series-testing-assessment-publications-number.htm].

(11) Scott, L., Eskes, C., Hoffmann, S., Adriaens, E., Alépée, N., Bufo, M., Clothier, R., Facchini, D., Faller, C., Guest, R., Harbell, J., Hartung, T., Kamp, H., Le Varlet, B., Meloni, M., McNamee, P., Osborne, R., Pape, W., Pfannenbecker, U., Prinsen, M., Seaman, C., Spielmann, H., Stokes, W., Trouba, K., Van den Berghe, C., Van Goethem, F., Vassallo, M., Vinardell, P., Zuang, V. (2010). A Proposed Eye Irritation Testing Strategy to Reduce and Replace In Vivo Studies Using Bottom-Up and Top-Down Approaches. Toxicol. In Vitro 24, 1-9.

© OECD, (2022)

(12) Adriaens, E., Barroso, J., Eskes, C., Hoffmann, S., McNamee, P., Alépée, N., Bessou-Touya, S., De Smedt, A., De Wever, B., Pfannenbecker, U., Tailhardat, M., Zuang, V. (2014). Retrospective Analysis of the Draize Test for Serious Eye Damage/Eye Irritation: Importance of Understanding the in vivo Endpoints Under UN GHS/EU CLP for the Development and Evaluation of In Vitro Test Methods. Arch. Toxicol. 88, 701-723.

(13) Barroso, J., Pfannenbecker, U., Adriaens, E., Alépée, N., Cluzel, M., De Smedt, A., Hibatallah, J., Klaric, M., Mewes, K.R., Millet, M., Templier, M., McNamee, P. (2017). Cosmetics Europe compilation of historical serious eye damage/eye irritation in vivo data analysed by drivers of classification to support the selection of chemicals for development and evaluation of alternative methods/strategies: the Draize eye test Reference Database (DRD). Arch. Toxicol. 91, 521-547.

(14) Alépée N, Adriaens E, Abo T, Bagley D, Desprez B, Hibatallah J, Mewes KR, Pfannenbecker U, Sala A, Van Rompay AR, Verstraelen S, McNamee P. (2019). Development of a defined approach for eye irritation or serious eye damage for neat liquids based on Cosmetics Europe Analysis of in vitro RhCE and BCOP test methods. Toxicology In Vitro 59, 100-114. doi: 10.1016/j.tiv.2019.04.011.

(15) Alépée N, Adriaens E, Abo T, Bagley D, Desprez B, Hibatallah J, Mewes KR, Pfannenbecker U, Sala A, Van Rompay AR, Verstraelen S, McNamee P. (2019). Development of a defined approach for eye irritation or serious eye damage for liquids, neat and in dilution, based on cosmetics Europe analysis of in vitro STE and BCOP test methods. Toxicology In Vitro 57, 154-163. doi: 10.1016/j.tiv.2019.02.019.

(16) EC EURL ECVAM. (2014). The EURL ECVAM - Cosmetics Europe prospective validation study of Reconstructed human Cornea-like Epithelium (RhCE)-based test methods for identifying chemicals not requiring classification and labelling for serious eye damage/eye irritation: Validation Study Report. EUR 28125 EN; doi:10.2787/41680. Available at: [http://publications.jrc.ec.europa.eu/repository/handle/JRC100280].

(17) Alépée, N., Leblanc, V., Adriaens, E., Grandidier, M.H., Lelièvre, D, Meloni, M., Nardelli, L., Roper, C.S, Santirocco, E., Toner, F., Van Rompay, A., Vinall, J., Cotovio, J. (2016). Multi-laboratory validation of SkinEthic HCE test method for testing serious eye damage/eye irritation using liquid chemicals. Toxicol. In Vitro 31, 43-53.

(18) Alépée, N., Adriaens, E., Grandidier, M.H., Meloni, M., Nardelli, L., Vinall, C.J., Toner, F., Roper, C.S, Van Rompay, A.R., Leblanc, V., Cotovio, J. (2016). Multilaboratory evaluation of SkinEthic HCE test method for testing serious eye damage/eye irritation using solid chemicals and overall performance of the test method with regard to solid and liquid chemicals testing. Toxicol. In Vitro 34, 55-70.

(19) Sakaguchi, H., Ota, N., Omori, T., Kuwahara, H., Sozu, T., Takagi, Y., Takahashi, Y., Tanigawa, K., Nakanishi, M., Nakamura, T., Morimoto, T., Wakuri, S., Okamoto, Y., Sakaguchi, M., Hayashi, T., Hanji, T., Watanabe, S., 2011. Validation study of the Short Time Exposure (STE) test to assess the eye irritation potential of chemicals. Toxicol. In Vitro 25, 796–809.

(20) Adriaens E, Verstraelen S, Desprez B, Alépée N, Abo T, Bagley D, Hibatallah J, Mewes KR, Pfannenbecker U, Van Rompay AR (2021) Overall performance of Bovine Corneal Opacity and Permeability (BCOP) Laser Light-Based Opacitometer (LLBO) test method with regard to solid and liquid chemicals testing. Toxicol. in Vitro 70, 105-044. doi: 10.1016/j.tiv.2020.105044. Epub 2020 Oct 31. PMID: 33130054.

(21) OECD (2022). Supporting document to the Guideline (GL) on Defined Approaches (DAs) for Serious Eye Damage and Eye Irritation. Series on Testing and Assessment No. 354. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris. Available at: [https://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/series-testing-assessment-publications-number.htm]

© OECD, (2022)

2. パート I—非界面活性剤 [1]原液を対象とし、物理化学的特性および *in vitro* データに基づいた確定方式 1（DAL-1）

27. 本 GL のパート I は DAL-1 に適用する。DAL-1 の目的は危険有害性の特定にあり、すなわち、被験化学物質（またはその欠如）に対する重篤な眼損傷性と眼刺激性の可能性との識別について、特に非界面活性剤原液を対象に、その物理化学的特性および *in vitro* データに基づいて行う。危険有害性の特定に関する DAL-1 の要約を以下に示す。さらなる詳細情報は、*重篤な眼損傷性／眼刺激性の確定方式（DA）に関するガイドライン（GL）補足文書(5)*に見出せる。

2.1. DAL-1

2.1.1. 要約

28. DAL-1 の目的は、被験化学物質の眼刺激性に関する危険有害性の特定（すなわち、UN GHS 区分 1、UN GHS 区分 2、UN GHS 区分外の識別）について、動物試験を用いずに行うことにある。データ解釈手順（DIP）は、区分 2 を下位の 2A および 2B に区分する情報を示すよう設計されてはいない。

29. 本 GL 記載の DAL-1 では、非界面活性剤液である物質の眼に対する危険有害性の可能性を特定するため、動物試験を用いない分類および表示を主要目的として、1 つおよび／または 3 つの物理化学的特性と 2 つの *in vitro* 試験法（RhCE および BCOP LLBO）の結果との併用について記述している(1)。物理化学的特性は、公的に入手可能なデータベースから検索でき、新たな実験研究により判定でき、あるいは、コンピュータによる方法（例：定量的構造活性相関（（Q）SAR））を用いて予測できる。DAL-1 の一部である RhCE モデルには、EpiOcular™眼刺激性試験（EIT）および SkinEthic™ヒト角膜上皮（HCE）EIT があり、本 GL ではそれぞれ「検証済み標準試験法」である EpiOcular™ EIT（VRM1：OECD TG 492）および SkinEthic™ HCE EIT（VRM2：OECD TG 492）と称される(2)。さらに、レーザー光ベースのオパシトメータ（LLBO）を扱うウシ角膜を用いる混濁度および透過性（BCOP）試験法が用いられる（OECD TG 437）(3)。

30. VRM1 による DAL-1 を、精選されたドレイズ眼刺激性試験の参照データを有する 94 種類の化学物質と比較したところ、68.7%というバランスのとれた正確度を示した（表 2.1 参照）。VRM2 による DAL-1 を、精選されたドレイズ眼刺激性試験の参照データを有する 86 種類の化学物質と比較したところ、75.0%というバランスのとれた正確度を示した（表 2.2 参照）。

2.1.2. データ解釈手順

31. 適用されるデータ解釈手順（DIP）では、TG により定義された個々の試験法ごとの予測モデルおよび／または物理化学的特性に関する情報の読み出しを用いる。DAL-1 の模式図を図 2.1 に示す。第 1 ステップでは、原液の水溶性（WS）

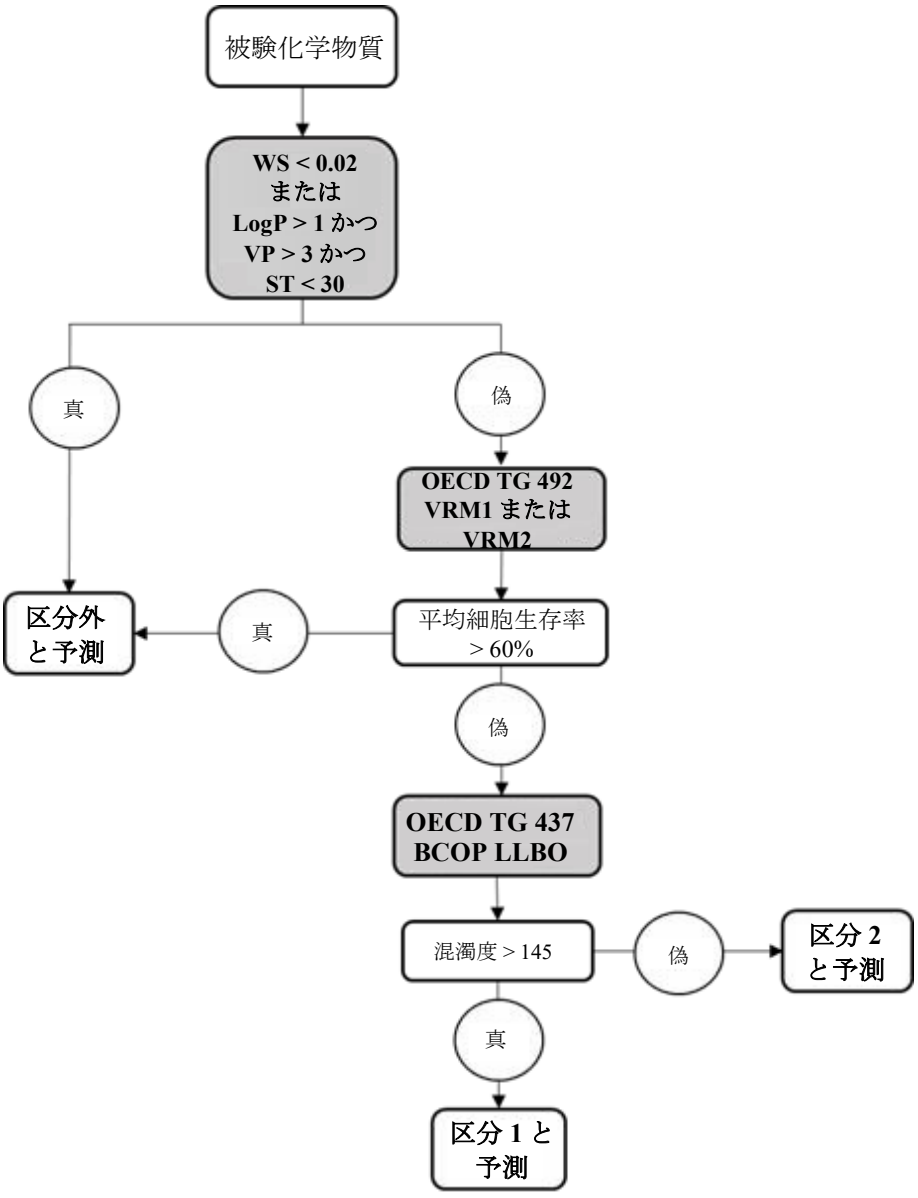
[1] 界面活性剤：表面活性剤とも呼ばれ、洗剤などの物質がこれに当たり、水の表面張力を低下できるため発泡または固体へ浸透が可能で、湿潤剤としても知られている。

© OECD, (2022)

か、オクタノール／水分配係数（LogP）、蒸気圧（VP）、および表面張力（ST）の併用に基づく物理化学的特性の除外ルールを用い、重篤な眼損傷性も眼刺激性の可能性も示さない液体化学物質を特定する（詳細は*重篤な眼損傷性／眼刺激性の確定方式（DA）に関するガイドライン（GL）補足文書(5)*第 5.1.2 項に示す）。物理化学的特性に基づく除外ルールに従って区分外と特定されない液体は、次に第 2 ステップで RhCE 試験法（VRM1 または VRM2）に基づき評価する。組織生存率が 60%超となる液体は、区分外に分類される。組織生存率が 60%以下となる液体は、次に第 3 ステップで BCOP LLBO 試験法に基づき評価する。混濁度が 145 超となる液体は区分 1 と予測され、残りの液体は区分 2 に割り当てられる。RhCE 法から開始後、VRM1 または VRM2 で測定された組織生存率が 60%超の場合に、物理化学的特性の除外ルールの適用も可能であることに留意されたい（図 2.2）。さらに、第 1 ステップとして RhCE 法を用いる場合で、組織生存率が 60%超の場合、予測は単独での方法に基づく。

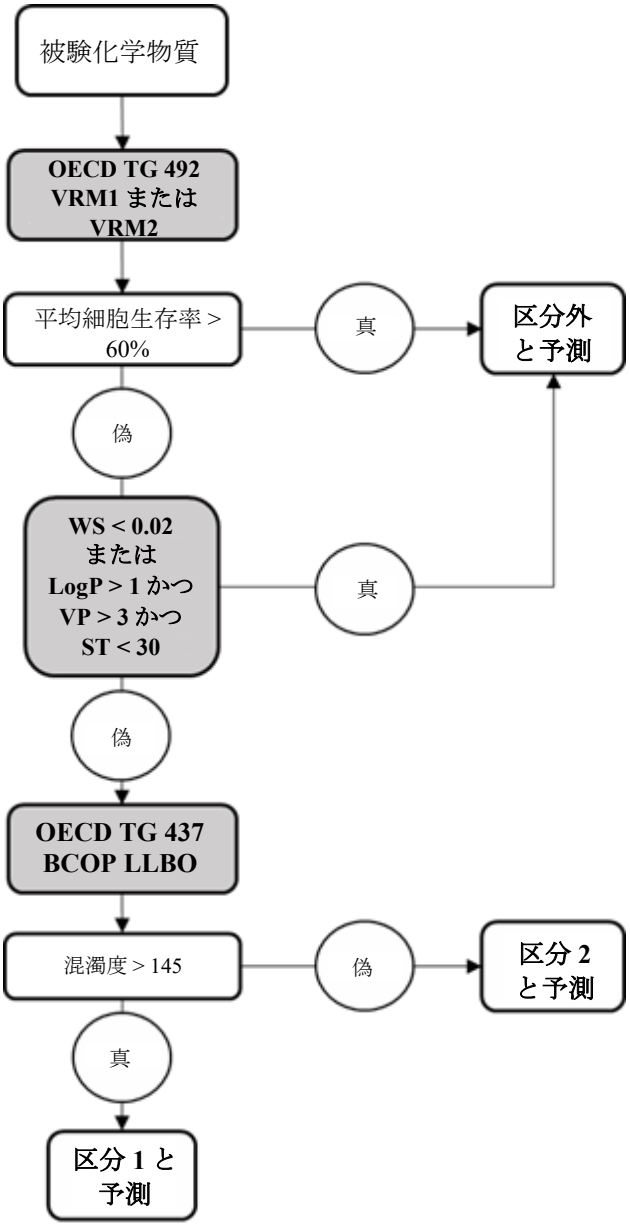
© OECD, (2022)

図 2.1.　DAL-1 選択肢 1 の模式図。第 1 ステップ—区分外を特定する物理化学的特性の除外ルール（WS：水溶性（単位：mg/mL）か、LogP：オクタノール／水分配係数、VP：蒸気圧（単位：mm Hg）、ST：原液の表面張力（単位：dyne/cm））。第 2 ステップ—区分外の特定に用いる RhCE 試験法。第 3 ステップ—区分 1 の特定に用いる BCOP LLBO。



© OECD, (2022)

図 2.2.　DAL-1 選択肢 2 の模式図。第 1 ステップ—区分外の特定に用いる RhCE 試験法。第 2 ステップ—区分外を特定する物理化学的特性の除外ルール（WS：水溶性（単位：mg/mL）か、LogP：オクタノール／水分配係数、VP：蒸気圧（単位：mm Hg）、ST：原液の表面張力（単位：dyne/cm））。第 3 ステップ—区分 1 の特定に用いる BCOP LLBO。



© OECD, (2022)

2.1.3. 個々の情報源の説明および限界

32. DA における個々の情報源は、重篤な眼損傷性／眼刺激性またはそのいずれでもないことに関する OECD TG（OECD TG 437、492）(2, 3)記載の物理化学的特性および試験法であり、そのプロトコールは当該の TG に詳述されている。

33. これらの TG に記載されている以下 *in vitro* 試験法が、DAL-1 での特性評価に用いられ実施対象となっている。

- RhCE 試験法：この方法では、細胞毒性誘発能を測定する。境界線上の結果が得られた場合には、OECD TG 492 (2)の規定どおり、追加の試験を実施する。
- BCOP LLBO 試験法：被験化学物質の眼に対する危険有害性の可能性を、摘出ウシ角膜でのその混濁度および透過性の誘発能により測定する。DA では、混濁度の測定のみ考慮されることに留意されたい。混濁度の測定について境界線上の結果が得られた場合には、OECD TG 437 (3)の規定どおり、追加の試験を実施する。

34. 各試験法を用いた TG（TG 437、TG 492）および物理化学的特性を測定する分析法（GL 104、GL 105、GL 107、GL 115、GL 117、GL 123）において、特定されている適用領域に関する制限があれば、本 GL に適用可能である(2, 3)。

35. 物理化学的特性の測定は OECD ガイドライン（GL）に従って実施すべきであり、特定の OECD GL ごとのデータおよび報告において要求される情報に見合った試験報告書が必要である（補遺 E 参照）。物理化学的特性の予測には、QSAR モデルに関する OECD 5 原則に基づいており、QMRF（QSAR モデル報告様式）を備えているモデルを用いる。

2.1.4. DAL-1 関連の試験ガイドラインにおける境界線上の結果の処理手順

36. 情報の各要素を使用可能か否かに関する最初の判断は、それぞれの *in vitro* 試験法を用いた TG（TG 437、TG 492）(2, 3)記載の適用領域により決まる。領域内にある物質でも、試験結果は本質的に変動を受けやすく、その変動は、特に（分類上の）カットオフ閾値に近い場合、すなわち境界線上の範囲にある場合、試験結果の不確実性を増大させる。不確実性の度合いを管理するために以下の手順が整えられており、各情報源の TG に記載されている。

- TG 492（RhCE）：結果が明確である場合、1 被験化学物質について 2 回以上の組織反復実験からなる単回試験で十分とする。ただし、反復実験測定結果が一致しない、および／または平均組織生存率が 60±5%に相当するなど境界線上の結果である場合には、2 回目の試験を検討し、また、最初の 2 回の試験間での結果が相容れない場合には、3 回目の試験を検討する。
- TG 437（BCOP LLBO）：混濁度（ルクス／7、平均混濁度：145 超）に基づいて UN GHS 区分 1 は予測されるが、3 枚中 1 枚の角膜の混濁度（ルクス／7）が 130 未満の場合、すなわち、1 回目の試験実施において境界線上の結果が得られた場合には、2 回目の試験実施を検討し、また、最初の 2 回の実施試験間での予測結果が相容れない場合には、3 回目の試験を検討する。

© OECD, (2022)

2.1.5. ドレイズ眼刺激性試験と比較した VRM1 による DAL-1 の予測能

37. VRM1 による DAL-1 の予測能は、ドレイズ眼刺激性試験による生成データに基づき報告される（**表 2.1** 参照）（*重篤な眼損傷性／眼刺激性の確定方式（DA）に関するガイドライン（GL）補足文書(5)*）**第 2.1 項**および**補遺 B.3** 参照）。性能統計では、ドレイズ眼刺激性試験参照データとの比較による重み付き予測について報告する。特定の化学物質に関する DA 予測結果およびさらなる詳細は、*重篤な眼損傷性／眼刺激性の確定方式（DA）に関するガイドライン（GL）補足文書(5)* **第 5 項**および**補遺 B.2** から入手可能である。

表 2.1. ドレイズ眼刺激性試験参照データと比較した VRM1 による DAL-1 の性能

UN GHS	VRM1 による DAL-1 を用いた予測		
	区分 1	区分 2	区分外
区分 1（N='17'）、%[a]（n/N）	**76.5%（13.0/17.0）**	23.5% （4.0/17.0）	0.0% （0.0/17.0）
区分 2（N='22'）、%[a]（n/N）	27.3% （6.0/22.0）	**59.1% （13.0/22.0）**	13.6% （3.0/22.0）
区分外（N='55'）、%[a]（n/N）	29.5% （16.2/55.0）[b]		**70.5% （38.8/55.0）**
全体では 68.7%のバランスのとれた正確度			

[a] 与えられた割合は、所定の化学物質個々の情報源から得られた複数の結果を（存在する場合）考慮に入れる加重計算に基づいており、すべての化学物質の重みが 1 になるよう補正係数を適用している。表中の数値の読みやすさを改善するため、n/N の数値を四捨五入したことで、n/N は加重計算に対応する割合からわずかに逸脱する可能性がある。

[b] BCOP LLBO データは、*in vivo* における区分外の液体の大多数（40/55）では入手できないため、VRM1 により区分外と特定されなかった液体について、（BCOP LLBO に基づく）区分 1 と区分 2 との区別はできなかった。したがって、区分 1 と区分 2 との間に偽陽性が示される。

注 1：2 つのバージョンの DIP（図 2.1 および図 2.2）の性能は同じである。

注 2：クラス特有の性能（クラス内での正しさ、クラス外での正しさ、およびバランスのとれた正確度）に関するさらなる詳細については、*重篤な眼損傷性／眼刺激性の確定方式（DA）に関するガイドライン（GL）補足文書(5)*第 5 項を参照されたい。

2.1.6. ドレイズ眼刺激性試験と比較した VRM2 による DAL-1 の予測能

38. VRM2 による DAL-1 の予測能は、ドレイズ眼刺激性試験による生成データに基づき報告される（**表 2.2** 参照）（*重篤な眼損傷性／眼刺激性の確定方式（DA）に関するガイドライン（GL）補足文書(5)*）**第 2.1 項**および**補遺 B.3** 参照）。性能統計では、ドレイズ眼刺激性試験参照データとの比較による重み付き予測について報告する。特定の化学物質に関する DA 予測結果およびさらなる詳細は、*重篤な眼損傷性／眼刺激性の確定方式（DA）に関するガイドライン（GL）補足文書(5)* **第 5 項**および**補遺 B.2** から入手可能である。

© OECD, (2022)

表 2.2. ドレイズ眼刺激性試験参照データと比較した VRM2 による DAL-1 の性能

UN GHS	VRM2 による DAL-1 を用いた予測		
	区分 1	区分 2	区分外
区分 1（N='17'）、%[a]（n/N）	**76.5%（13.0/17.0）**	23.5%（4.0/17.0）	0.0%（0.0/17.0）
区分 2（N='23'）、%[a]（n/N）	30.4%（7.0/23.0）	**68.7%（15.8/23.0）**	0.9%（0.2/23.0）
区分外（N='46'）、%[a]（n/N）	20.3%		**79.7%**
	（9.3/46.0）[b]		**（36.7/46.0）**
全体では 75.0%のバランスのとれた正確度			

[a] 与えられた割合は、所定の化学物質個々の情報源から得られた複数の結果を（存在する場合）考慮に入れる加重計算に基づいており、すべての化学物質の重みが 1 になるよう補正係数を適用している。表中の数値の読みやすさを改善するため、n/N の数値を四捨五入したことで、n/N は加重計算に対応する割合からわずかに逸脱する可能性がある。

[b] BCOP LLBO データは、*in vivo* における区分外の液体の大多数（34/46）では入手できないため、VRM2 により区分外と特定されなかった液体について、（BCOP LLBO に基づく）区分 1 と区分 2 との区別はできなかった。したがって、区分 1 と区分 2 との間に偽陽性が示される。

注 1：2 つのバージョンの DIP（図 2.1 および図 2.2）の性能は同じである。

注 2：クラス特有の性能（クラス内での正しさ、クラス外での正しさ、およびバランスのとれた正確度）に関するさらなる詳細については、*重篤な眼損傷性／眼刺激性の確定方式（DA）に関するガイドライン（GL）補足文書(5)*第 5 項を参照されたい。

2.1.7. 習熟度の立証

39. DAL-1 は、単純なルールベースのデータ解釈手順に依拠しており、専門家の判断を必要としない。個々の情報源に関する習熟度確認化学物質が、それぞれの TG (2, 3)に定義されている。個々の情報源に関する習熟度は、DA の習熟度を示す。

2.1.8. DA の報告

40. DA 適用の報告には、最低限以下の要素を含める。

- 被験化学物質識別情報（例：化学名、構造式、組成、異性体、純度、不純物の化学的同一性と入手可能であればその量、CAS 番号、バッチ番号、ロット番号、およびその他の関連する識別子）
- 用いた DAL-1 の選択肢および用いた RhCE 法
- 対応する TG（OECD TG 437、TG 492）ごとに実施された個々の試験報告書。試験報告書ごとの化学的同一性は、上記と一致すべきであることに留意されたい。
- 特定の OECD GL ごとのデータおよび報告において要求される情報に見合った、物理化学的特性に関する個別の試験報告書（補遺 E）
- 用いる DA に適用された *in vitro* 試験法および物理化学的特性に関するデータの不確実性についての考察。
- 適用する DA の不確実性に関する考察を含む DA 適用結果、およびその予測される影響（例：過大または過小な分類）
- DA からの逸脱または DA の適合
- 結論

© OECD, (2022)

2.2. 参考文献

(1) Alépée N, Adriaens E, Abo T, Bagley D, Desprez B, Hibatallah J, Mewes KR, Pfannenbecker U, Sala A, Van Rompay AR, Verstraelen S, McNamee P. (2019). Development of a defined approach for eye irritation or serious eye damage for neat liquids based on Cosmetics Europe Analysis of in vitro RhCE and BCOP test methods. Toxicology In Vitro 59, 100-114. https://doi: 10.1016/j.tiv.2019.04.011.

(2) OECD (2019), OECD Guidelines for the Testing of Chemicals No. 492: Reconstructed human Cornea-like Epithelium (RhCE) test method for identifying chemicals not requiring classification and labelling for eye irritation or serious eye damage, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, https://doi.org/10.1787/9789264242548-en.

(3) OECD (2020), OECD Guidelines for the Testing of Chemicals No. 437: 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, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, https://doi.org/10.1787/9789264203846-en.

(4) OECD (2014), Guidance Document on the Validation of (Quantitative) Structure-Activity Relationship [(Q)SAR] Models, OECD Series on Testing and Assessment, No. 69, OECD Publishing, Paris, https://doi.org/10.1787/9789264085442-en.

(5) OECD (2022), Supporting document to the Guideline (GL) on Defined Approaches (DAs) for Serious Eye Damage and Eye Irritation. Series on Testing and Assessment No. 354. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris. Available at: [https://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/series-testing-assessment-publications-number.htm]

© OECD, (2022)

3. パート II—非界面活性剤[1]の原液、液体、および水に溶解した固体を対象とし、*in vitro* データに基づいた確定方式 2（DAL-2）

41. 本 GL のパート II は DAL-2 に適用する。DAL-2 の目的は危険有害性の特定にあり、すなわち、被験化学物質（またはその欠如）に対する重篤な眼損傷性と眼刺激性の可能性との識別について、特に非界面活性剤の原液、液体、および水に溶解した固体を対象に、*in vitro* データに基づいて行う。危険有害性の特定に関する DAL-2 の要約を以下に示す。さらなる詳細情報は、*重篤な眼損傷性／眼刺激性の確定方式（DA）に関するガイドライン（GL）補足文書(4)*に見出せる。

3.1. DAL-2

3.1.1. 要約

42. DAL-2 の目的は、被験化学物質の眼刺激性に関する危険有害性の特定（すなわち、UN GHS 区分 1、UN GHS 区分 2、UN GHS 区分外の識別）について、動物試験を用いずに行うことにある。データ解釈手順（DIP）は、区分 2 を下位の 2A および 2B に区分する情報を示すよう設計されてはいない。

43. 本 GL 記載の DAL-2 では、非界面活性剤の原液、液体、および水に溶解した固体の眼に対する危険有害性の可能性を特定するため、動物試験を用いない分類および表示を主要目的として、2 つの *in vitro* 試験法（STE：OECD TG 491 および BCOP LLBO：OECD TG 437）の併用について記述している(1, 2, 3)。

44. DAL-2 を、精選されたドレイズ眼刺激性試験の参照データを有する 164 種類の化学物質と比較したところ、74.3%というバランスのとれた正確度を示した（**表 3.1** 参照）。

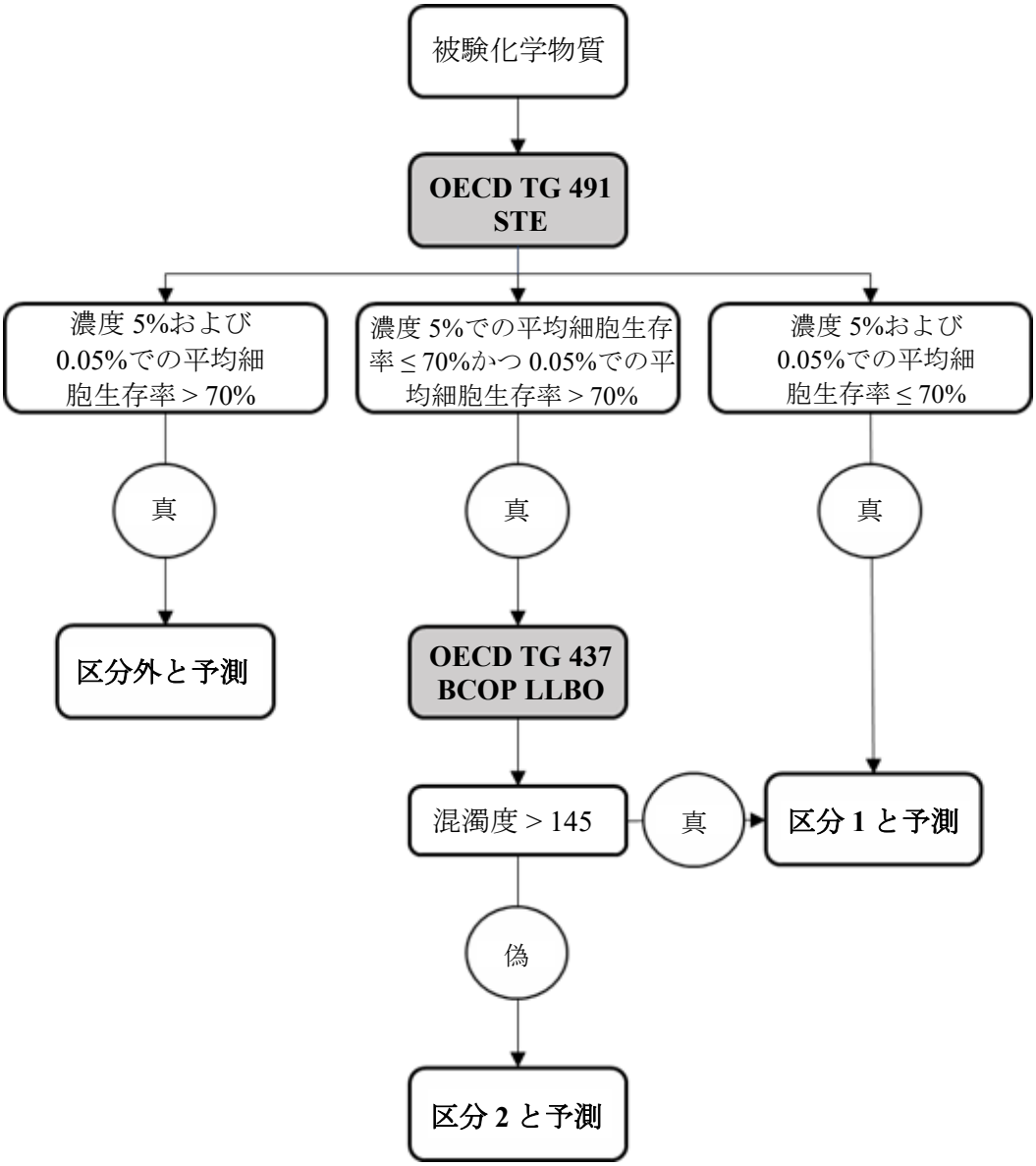
3.1.2. データ解釈手順

45. 適用する DIP は、TG（OECD 437、OECD 491）(1, 2)により定義される個々の試験法ごとの予測モデルの読み出しを用いる。DAL-2 の模式図を図 3.1 に示す。STE 試験法を用いて、重篤な眼損傷性も眼刺激性の可能性も示さない液体化学物質（区分外：濃度 5%および 0.05%での平均細胞生存率が 70%超となる液体）を特定し、あるいは重篤な眼損傷性／眼刺激性をもたらす液体（区分 1：濃度 5%および 0.05%での平均細胞生存率が 70%以下となる液体）を特定する。濃度 5%で平均細胞生存率が 70%以下となるが、0.05%では 70%超となる液体の場合、BCOP LLBO が必要である。混濁度が 145 超となる液体は区分 1 と予測され、残りの液体は区分 2 に割り当てられる。BCOP LLBO から開始後の STE 試験法実施も可能であることに留意されたい。この DAL-2 の模式図を図 3.2 に示す。

[1] 界面活性剤：表面活性剤とも呼ばれ、洗剤などの物質がこれに当たり、水の表面張力を低下できるため発泡または固体へ浸透が可能で、湿潤剤としても知られている。

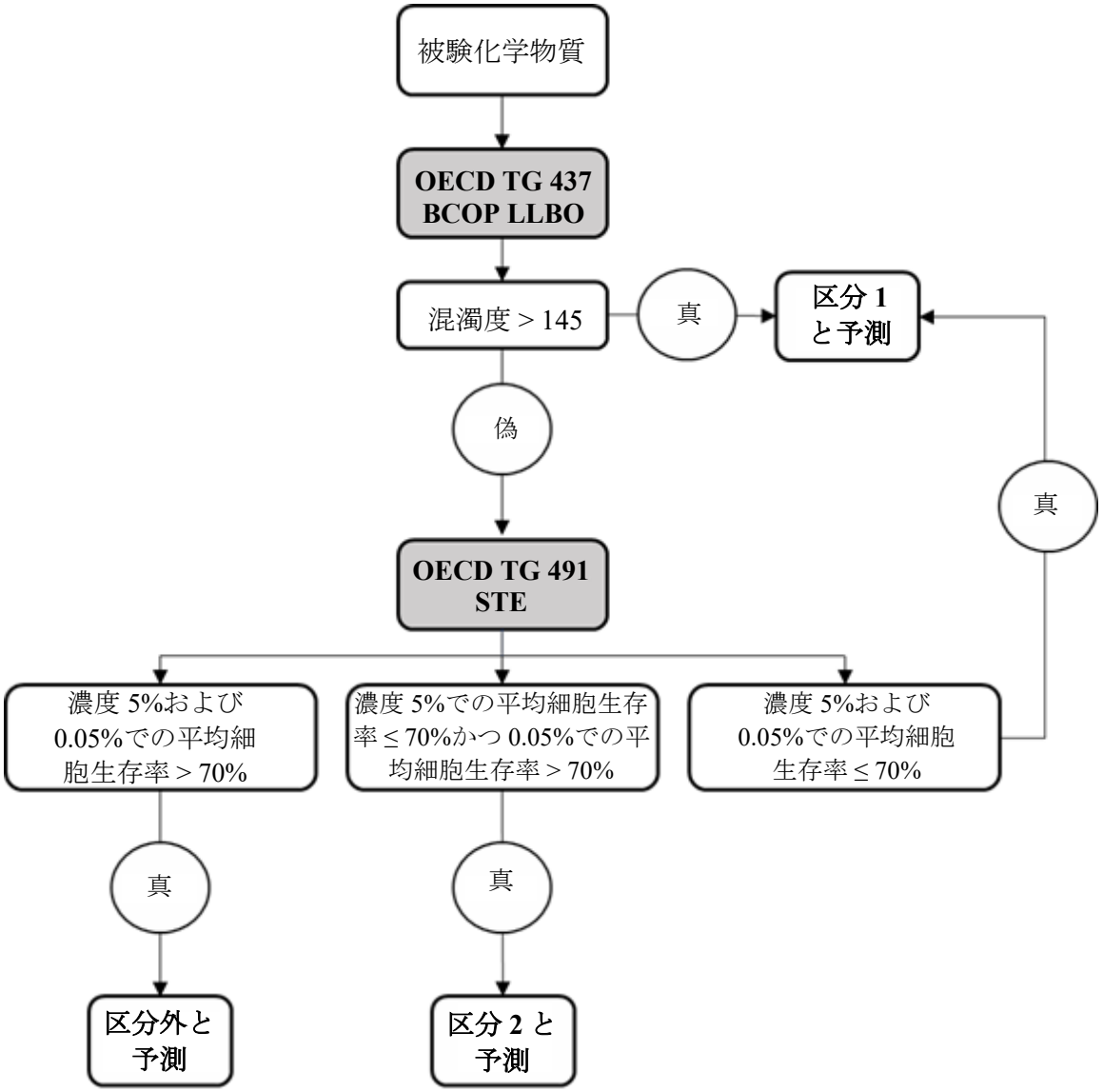
© OECD, (2022)

図 3.1. DAL-2 選択肢 1 の模式図：STE 試験法から開始後、BCOP LLBO 試験法を実施



© OECD, (2022)

図 3.2. DAL-2 選択肢 2 の模式図：BCOP LLBO 試験法から開始後、STE 試験法を実施。



© OECD, (2022)

3.1.3. 個々の情報源の説明および限界

46. DA における個々の情報源は、重篤な眼損傷性／眼刺激性またはそのいずれでもないことに関する OECD TG（OECD TG 437、491）(1, 2)記載の試験法であり、そのプロトコールは当該の TG に詳述されている。

47. これらの TG に記載されている以下試験法が、DAL-2 での特性評価に用いられ実施対象となっている。

- BCOP LLBO 試験法：被験化学物質の眼に対する危険有害性の可能性を、摘出ウシ角膜でのその混濁度および透過性の誘発能により測定する。DAL-2 では、混濁度の測定のみ考慮されることに留意されたい。混濁度の測定について境界線上の結果が得られた場合には、OECD TG 437 (1)の規定どおり、追加の試験を実施する。
- STE 試験法：被験化学物質の眼に対する危険有害性の可能性を、Statens Seruminstitut Rabbit Cornea（SIRC）細胞のコンフルエントな単層におけるその細胞毒性誘発能に基づき評価する。

48. それぞれの TG（TG 437、TG 491）(1, 2)において、特定されている適用領域に関する制限があれば、本 GL に適用可能である。

3.1.4. DAL-2 予測結果関連の試験ガイドラインにおける境界線上の結果の処理手順

49. 情報の各要素を使用可能か否かに関する最初の判断は、それぞれの *in vitro* 試験法を用いた TG（TG 437、TG 491）(1, 2)記載の実務上の制限により決まる。領域内にある物質でも、試験結果は本質的に変動を受けやすく、その変動は、特に（分類上の）カットオフ閾値に近い場合、すなわち境界線上の範囲にある場合、試験結果の不確実性を増大させる。不確実性の度合いを管理するため、以下の手順が各情報源の TG に記載されている。

- TG 437（BCOP LLBO）：混濁度（ルクス／7、平均混濁度：145 超）に基づいて UN GHS 区分 1 は予測されるが、3 枚中 1 枚の角膜の混濁度（ルクス／7）が 130 未満の場合、すなわち、1 回目の試験実施において境界線上の結果が得られた場合には、2 回目の試験実施を検討し、また、最初の 2 回の実施試験間での予測結果が相容れない場合には、3 回目の試験を検討する。
- TG 491（STE）：独立した 3 回の反復試験から得られた最終的な細胞生存率の標準偏差は、被験化学物質の濃度 5%と 0.05%の両方で 15%未満であること。標準偏差が 15%以上の場合、その結果を用いず、さらに 3 回反復試験を実施する。

3.1.5. ドレイズ眼刺激性試験と比較した DAL-2 の予測能

50. DAL-2 の予測能は、ドレイズ眼刺激性試験による生成データに基づき報告される（表 3.1 参照）（*重篤な眼損傷性／眼刺激性の確定方式（DA）に関するガイドライン（GL）補足文書(4)***第 2.1 項**および**補遺 B.3** 参照）。性能統計では、ドレイズ眼刺激性試験参照データとの比較による重み付き予測について報告する。特定の化学物質に関する DA 予測結果およびさらなる詳細は、*重篤な眼損傷性／*

© OECD, (2022)

*眼刺激性の確定方式（DA）に関するガイドライン（GL）補足文書(4)***第 5 項**および**補遺 B.2** から入手可能である。

表 3.1. ドレイズ眼刺激性試験参照データと比較した DAL-2 の性能

UN GHS	DAL-2 を用いた予測		
	区分 1	区分 2	区分外
区分 1（N=17）、%[a]（n/N）	**81.2%（13.8/17.0）**	17.6%（3.0/17.0）	1.2%（0.2/17.0）
区分 2（N=24）、%[a]（n/N）	30.2%（7.2/24.0）	**56.3%（13.5/24.0）**	13.5%（3.2/24.0）
区分外（N=123）、%[a]（n/N）	14.7%（18.1/123.0）[b]		**85.3%（104.9/123.0）**
全体では 74.3%のバランスのとれた正確度			

[a] 与えられた割合は、所定の化学物質個々の情報源から得られた複数の結果を（存在する場合）考慮に入れる加重計算に基づいており、すべての化学物質の重みが 1 になるよう補正係数を適用している。表中の数値の読みやすさを改善するため、n/N の数値を四捨五入したことで、n/N は加重計算に対応する割合からわずかに逸脱する可能性がある。

[b] BCOP LLBO データは、*in vivo* における区分外の液体の大多数（108/123）では入手できないため、STE により区分外と特定されなかった液体について、（BCOP LLBO に基づく）区分 1 と区分 2 との区別はできなかった。

注 1：性能は、図 3.1 に示すバージョンの DIP を用いて得られた。

注 2：クラス特有の性能（クラス内での正しさ、クラス外での正しさ、およびバランスのとれた正確度）に関するさらなる詳細については、*重篤な眼損傷性／眼刺激性の確定方式（DA）に関するガイドライン（GL）補足文書(4)***第 5 項**を参照されたい。

3.1.6. 習熟度確認化学物質

51. DAL-2 は、単純なルールベースのデータ解釈手順に依拠しており、専門家の判断を必要としない。個々の情報源に関する習熟度確認化学物質が、それぞれの TG (1, 2)に定義されている。個々の情報源に関する習熟度は、DAL-2 の習熟度を示す。

3.1.7. DA の報告

52. DA 適用の報告には、最低限以下の要素を含める。

- 被験化学物質識別情報（例：化学名、構造式、組成、異性体、純度、不純物の化学的同一性と入手可能であればその量、CAS 番号、バッチ番号、ロット番号、およびその他の関連する識別子）
- 用いた DAL-2 の選択肢の記述。
- 対応する TG（OECD TG 437、TG 491）ごとに実施された個々の試験報告書。試験報告書ごとの化学的同一性は、上記と一致すべきであることに留意されたい。
- 用いる DA に適用された *in vitro* 試験法に関するデータの不確実性についての考察。
- 適用する DA の不確実性に関する考察を含む DA 適用結果、およびその予測される影響（例：過大または過小な分類）
- DA からの逸脱または DA の適合
- 結論

© OECD, (2022)

3.2. 参考文献

(1) OECD (2020), OECD Guidelines for the Testing of Chemicals No. 437: 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, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, https://doi.org/10.1787/9789264203846-en.

(2) OECD (2020), OECD Guidelines for the Testing of Chemicals No. 491: Short Time Exposure In Vitro Test Method for Identifying i) Chemicals Inducing Serious Eye Damage and ii) Chemicals Not Requiring Classification for Eye Irritation or Serious Eye Damage, OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, Section 4, OECD Publishing, Paris, https://doi.org/10.1787/9789264242432-en.

(3) Alépée N, Adriaens E, Abo T, Bagley D, Desprez B, Hibatallah J, Mewes KR, Pfannenbecker U, Sala A, Van Rompay AR, Verstraelen S, McNamee P. (2019). Development of a defined approach for eye irritation or serious eye damage for liquids, neat and in dilution, based on cosmetics Europe analysis of *in vitro* STE and BCOP test methods. Toxicology In Vitro 57, 154-163. doi: 10.1016/j.tiv.2019.02.019.

(4) OECD (2022). Supporting document to the Guideline (GL) on Defined Approaches (DAs) for Serious Eye Damage and Eye Irritation. Series on Testing and Assessment No. 354. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris. Available at: [https://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/series-testing-assessment-publications-number.htm]

© OECD, (2022)