

総括研究報告書

1. 研究開発課題名：新規動物試験代替法の開発、国際標準化及び普及促進に関する研究
2. 研究開発代表者：国立医薬品食品衛生研究所 安全性予測評価部 第二室長 小島 肇
3. 研究開発の成果

本研究では、「化粧品・医薬部外品の安全性評価に用いる代替法の国際標準化及びその普及の促進」を目的とし、必要な国際的な情報調査研究、代替法の開発、改良およびバリデーション、代替法を用いたリスク評価の検討、代替法で評価された成分のヒト試験の利用ガイダンスについて検討した。これらを通して、代替法を用いた安全性評価が普及・促進することを目指した。

1) 代替法の開発・改良

1-1) ATP バイオセンサーを用いた微弱な皮膚刺激性評価

当初の開発目標であった ATP バイオセンサーを用いた eATP 検出システムは同センサーの感度等の問題により断念せざるを得なくなったが、新たな ATP photon count を用いた eATP オンタイム測定システムの開発に成功した。今後、皮膚刺激（感作）性物質検知システムに臨床応用されることが期待される。

1-2) 眼刺激性試験代替法 BCOP（牛摘出角膜混濁および透過性試験）の改良

BCOP 法で得られた指数と病理組織学的検査を組み合わせることで、弱刺激性物質の評価を 74 物質を用いて検証した。指数から陽性と判断されても、病理組織学的検査により基底細胞層の変化が一部の細胞に局限したものである場合には、回復性が期待でき、弱刺激性物質であることを示唆された。

1-3) ヒト角膜由来細胞を用いた弱い眼刺激性を検出する代替法の開発

新規不死化ヒト角膜上皮細胞（iHCE-NY）を用いた安価で簡便な自家 3 次元構築角膜モデルの作製と、その角膜モデルを用いた正確な予測性を持つ眼刺激性試験プロトコルを構築することができた。ただし、最終目標として定めた弱い眼刺激性を確認できる試験法の開発の確立までには至らなかった。

2) 代替法のバリデーション

2-1) 眼刺激性試験代替法 ヒト角膜モデル LabCyte CORNEAL-MODEL EIT (Eye Irritation Testing: 眼刺激性試験) のバリデーション

3 施設によるバリデーションの結果、再現性、技術移転性、予測性いずれにおいても OECD TG492 に示された既存モデルである EpiOcular と同程度であると結論された。

2-2) バリデーションが終了した試験法について、国際的な専門家を招聘して第三者評価

バリデーションが終了した皮膚感作性試験代替法 IL-8 Luc アッセイの国際第三者評価を実施し、報告書には皮膚感作性の有害性を同定するため、他の試験法と組み合わせて用いることが推奨されている。

3) 代替法と組み合わせたリスク評価の検討

皮膚透過性と皮膚中濃度の関係を明らかにし、化学物質の皮膚透過パラメータを用いた皮膚中濃度予測法を確立した。また、モデル化合物として選択した 13 種の化学物質の皮膚中濃度を、確立した方法にて予測した結果、実測値と良好な相関が得られた。

4) 代替法のみで評価された成分のヒト試験の利用ガイダンス

現在、「15mk0101002h0102 研究開発課題名：皮膚適用の医薬品等成分による有害事象の機序解明・予測手法の開発のための研究」において行っている連続塗布試験を用いた皮膚刺激試験の基となる携帯電話による被験者管理の方法をほぼ確立できた。この結果を待って、ガイダンスを作成する予定である。

5) 国際情勢を加味して、近年開発された代替法についてのガイダンスの作成

本研究班で検討してきたガイダンスの中で「眼刺激性試験代替法としての牛摘出角膜の混濁及び透過性試験法（BCOP）を化粧品・医薬部外品の安全性評価に資するためのガイダンス」が厚生労働省医薬食品局審査管理課長より、2014年2月4日付で通知された。「眼刺激性試験を化粧品・医薬部外品の安全性評価に活用するための留意事項について」は2015年2月27日に事務連絡として発表され、「眼刺激性試験代替法としてのニワトリ摘出眼球を用いた眼刺激性試験法（ICE）を化粧品・医薬部外品の安全性評価に資するためのガイダンス」についてが、平成 27 年 11 月 16 日に発出された。