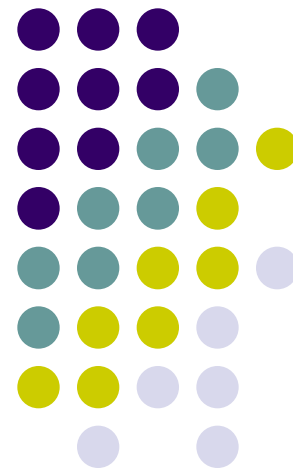


医薬部外品の製造販売承認申請における 安全性に関する資料のあり方検討会

眼刺激性分科会からの報告

平成21年12月10日





本日の報告内容

- 分科会の活動概要
- 部外品申請における眼刺激性試験の現状
- 分科会での検討
 - 部外品の眼刺激性試験に求められる観点
 - 国内外の代替法開発動向調査
 - 第三者評価を受けた試験法の検討
- まとめ

眼刺激性分科会の活動概要1

目的



- 医薬部外品の製造販売承認申請においては、ウサギを用いた眼刺激性試験が示されている。ヒトへの安全性を担保し、動物愛護の観点で今後の眼刺激性確認のあり方を考え、これまでの動物を用いた試験の代替法が医薬部外品の薬事申請において利用することが可能であるかについて検討する。

眼刺激性分科会の活動概要2

分科会メンバー



平野 耕治	医師	藤田保健衛生大学
畠 賢一郎	専門家	株式会社 ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング
森田 正道	専門家	アイリス動物医療センター
萩野 滋延	工業会	株式会社 資生堂
金子 豊蔵	専門家	国立医薬品食品衛生研究所 毒性部
瀬戸 洋一	学会	プロクター・アンド・ギャンブル・ジャパン株式会社
小島 肇	事務局	国立医薬品食品衛生研究所 薬理部 新規試験法評価室

眼刺激性分科会の活動概要3

これまでの活動



	開催日	概要
第1回	平成19年10月15日	<ul style="list-style-type: none">医薬部外品の安全性評価と動物実験代替法を用いた安全性評価体制確立代替法の現状と将来について
第2回	平成19年12月12日	<ul style="list-style-type: none">眼刺激性試験代替法開発のこれまでの流れ眼刺激性試験及び代替法開発の質疑応答
第3回	平成20年2月13日	<ul style="list-style-type: none">ヒト角膜傷害や痛みについて代替法の国際動向概要
第4回	平成20年4月30日	<ul style="list-style-type: none">ウサギの角膜についてDraize試験の解析
第5回	平成20年7月2日	<ul style="list-style-type: none">欧米の状況と今後の予定厚生科学研究ガイダンス案
第6回	平成20年9月17日	<ul style="list-style-type: none">試験法の第三者評価委員会眼刺激性試験との合同会議BCOP及びICEの検討
第7回	平成20年10月15日	<ul style="list-style-type: none">細胞を用いた眼刺激性評価の検討あり方検討委員会の今後の内容について
第8回	平成21年1月21日	<ul style="list-style-type: none">OECD、及びECVAMの状況について日本動物実験代替法学会の結果報告と確認
第9回	平成21年4月22日	<ul style="list-style-type: none">第三者評価委員会・眼刺激性分科会のBCOP法、及びICE法に関する報告書に基づく本分科会としての両法の検討

部外品申請における眼刺激性試験の現状1

化粧品・医薬部外品開発において眼刺激性試験を行う目的



化粧品・医薬部外品における眼刺激試験とは...

本来、眼に入れてはならないものが誤って入ったときの安全性を評価
粘膜への影響を評価



よって、化粧品・医薬部外品開発の眼刺激試験では、

- ① 眼に入った物質によりどのような損傷が、どの部位に、どの程度生ずるかを濃度や量との関係で明らかにする。
- ② 損傷の回復性の有無とその過程を明らかにする。
- ③ 洗眼処置による損傷の軽減化の有無を明らかにする。

(参考:大野泰雄、眼刺激性試験の代替法のバリデーション、組織培養、22(6)、221-217、1996)

眼に対する安全性を確保

眼に悪影響がない事、または応急処置により一過性の影響ですむことを保証

部外品申請における眼刺激性試験の現状2

部外品製造販売承認申請資料として紹介されている試験法



- 現在、ガイドブックや通知で紹介されている眼刺激性試験方法

試験動物	原則、若齢成熟白色ウサギ
動物数	原則、1群3匹以上
用量	原則、0.1mL(液体)又は100mg(固体)
投与方法	<ul style="list-style-type: none">●片方の目の下眼瞼を眼球より穏やかに引き離し、結膜嚢内に投与し、上下眼瞼を約1秒間穏やかにあわせる。●他方の眼は見処置のまま残し、無処置対照眼とする。●眼刺激性を示す物質は点眼後に洗顔を行なう。
観察	<ul style="list-style-type: none">● 原則、1、24、48、72及び96時間後に眼の観察を行なう。● 角膜、虹彩の刺激反応が認められた場合、その経過及び可逆性の有無について観察を続ける。

部外品申請における眼刺激性試験の現状3

代替試験法データの受入れについて



- 代替試験法による試験成績を申請資料として用いることは可能か？



- OECD等により採用された代替試験法¹⁾
- 適切なバリデーションでそれらと同等と評価された方法¹⁾
- 陽性対照を用いた十分な統計的データがあり、試験法についてのノウハウが十分に検討されている等の場合は、申請資料としての受入れを検討²⁾

参考：

1) 「医薬部外品の製造販売承認申請及び化粧品基準改正要請に添付する資料に関する質疑応答集(Q&A)」(平成18年7月19日 事務連絡)

厚生労働省医薬食品局審査管理課

2) 平成20年度医薬部外品承認申請 実務担当者説明会資料

分科会での検討



- 部外品の眼刺激性試験に求められる観点
- 国内外の代替法開発動向の調査
- 公的評価を受けた試験法の検討

分科会での検討

部外品の眼刺激性試験に求められる観点1 (ヒト安全確保)



これまでの試験法によりヒトに対する安全性の確保が行われてきた。

- 眼の構造比較・検討:
- ①角膜が薄い。②涙の量が少ない。③ヒトにはあるボーマン層が無い。④内皮は再生する(ヒトは再生しない)。⑤瞬膜がある。⑥鼻涙管はヒトでは二つであるのに対してウサギでは一つ。⑦鼻涙管が曲がりくねっているため、流れにくく、つまりやすい構造であり、化学物質の貯留性が長くなる可能性も考えられる。

これらの構造的な違い等が両者の感受性の違いに影響しているものと考えられた。ウサギの眼がヒトよりも概ね感受性が高いことにより、開発された試験法がウサギの眼の反応を代替することにより、結果としてヒトの眼に対する安全性が確保されていることが改めて確認された。

参考:

- Freeberg, F.E. *et al.*, (1986) Cutaneous and Ocular Toxicology 5(2), 115-123
- Roggeband, R. *et al.*, (2000) Food Chemical Toxicology 38(8), 727-734

分科会での検討

部外品の眼刺激性試験に求められる観点2 (角膜への影響)

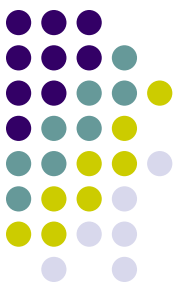


- 眼の各部位の反応について検討(厚生科学研究から):
 - 結膜が他の部位(角膜、虹彩)に比較して感受性が高かった。
 - 結膜のみの反応であれば、7日以内に回復した。
 - 角膜に反応が認められる場合では、7日を超え回復が遅れる場合が認められた。
 - 虹彩は角膜に傷害が無いときには反応は認められず、角膜の傷害に伴って反応が認められる傾向があった。

眼に対する安全性を考える上で、角膜の反応を重要視するべきであることが示唆された。化学物質による角膜の傷害は、細胞毒性とバリア機能の破壊が主たる機序であるので、それらを評価する*in vitro*試験の必要性が示唆された。

分科会での検討

部外品の眼刺激性試験に求められる観点3 (刺激性1)



- **最大平均評価点 (Maximum Average Score、以下MAS)と回復時間の関係:**
 - 濃度10%で適用された被験物質(n=34)においてMASと回復時間に対応関係。
 - MAS15点以下であれば、ほぼ7日以内に回復。MAS5点以下であれば、7日以内に回復しない事例は認められず、こちらも一つの指標となる可能性を示唆。
 - 濃度10%以外のDraize試験データ(n=21)においても、同様にMAS15点以下であれば、ほぼ7日以内に回復することが確認された。
- **世界調和システム (Global Harmonization System、以下、GHS)分類との関係:**
 - ウサギの眼の観察期間を14日目までとしたため、21日目までのデータが存在せず、GHS基準による1(強度刺激性)と2A(刺激性)の違いを判別できなかった。
 - 2B(刺激性)とNI(無刺激性)の違いについては判別可能。2B(刺激性)とNI(無刺激性)を判別する境界は概ねDraize試験のMAS15点。
 - MAS15点以下となることを予測できるin vitro試験法であるならば、GHSにも合致している試験法であると考えられた。

参考: 厚生科学研究「新規化粧品原料配合化粧品の安全性評価のための試験法の研究」
Van Goethem, F. et al., (2006) *Toxicology in Vitro* 20(1), 1-17

分科会での検討

部外品の眼刺激性試験に求められる観点4 (刺激性2)



Kay & Calandra 評価基準

MAS	評価
0-0.5	無刺激性
0.5-2.5	実質的無刺激性
2.5-15	最軽度刺激性
15-25	軽度刺激性
25-50	中程度刺激性
50-80	強度刺激性
80-100	非常に強い刺激性
100-110	最強度刺激性

Kay&Calandra変法の評価基準

MAS	評価
0-15(以下)	わずかな眼刺激性
15-25	弱い眼刺激性
25-50	中程度の眼刺激性
50-110	強い眼刺激性

DeSousaらの評価基準

MAS	評価
0-15(以下)	最軽度刺激性
15-25	軽度刺激性
25-50	中程度刺激性
50-80	強度刺激性
80-110	最強度刺激性

Guillotらの評価基準

MAS	評価
0-5	無刺激性
5-15	軽度刺激性
15-30	刺激性
30-60	中程度刺激性
60-80	強度刺激性
80-100	最強度刺激性

Draize試験の様々な評価基準においてもMAS15点が弱刺激の判定を行う指標となることが示唆され、代替法についてもMAS15点以下となることを予測できるin vitro試験法であるならば、部外品の眼刺激性試験に利用できる可能性があると考えられた。

分科会での検討

国内外の代替法開発動向の調査(国内)



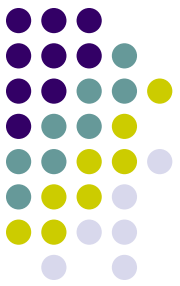
- 厚生科学研究 (1990年代)
 - 参加機関: 29施設
 - 被験物質数: 38種類(化粧品原料)
 - 試験数: 11種類
 - 細胞毒性試験
 - SIRC-NR
 - HeLa-MTT
 - CHL-CV
 - MATREX-MTT
 - 赤血球溶血 など
 - その他
 - 受精鶏卵
 - ヘモグロビン変性 など
- 参考: Ohno T. *et al.*, *Toxicol. In Vitro*, 13, 73-98 (1999)

厚生科学研究バリデーション結果・報告に基づき、細胞毒性試験(3次元モデルを含む)の医薬部外品の眼刺激性試験での利用の可能性についても議論した。

現在、JaCVAM第三者評価が実施されている。

分科会での検討

国内外の代替法開発動向の調査(国外)



国外の代替法開発動向を調査し、以下の2法についてはOECDガイドライン化が進行

- ウシ摘出角膜の混濁、及び透過性試験(Bovine Corneal Opacity and Permeability Test、以下BCOP法)
 - ニワトリ摘出眼球を用いた眼刺激性試験代替法(Isolated Chicken Eye Test Method、以下ICE法)
-
- 2006年～2007年： 米国ICCVAMと欧州ESAC(ECVAM科学諮問委員会)が眼腐食性や強い眼刺激性物質を同定する方法として承認
 - 2008年： OECDがガイドライン案を公表
 - 2009年9月： OECDテストガイドライン
 - ウシ摘出角膜の混濁及び透過性試験(BCOP)： OECD Test Guideline 437
 - 鶏の摘出眼球試験(ICE)： OECD Test Guideline 438

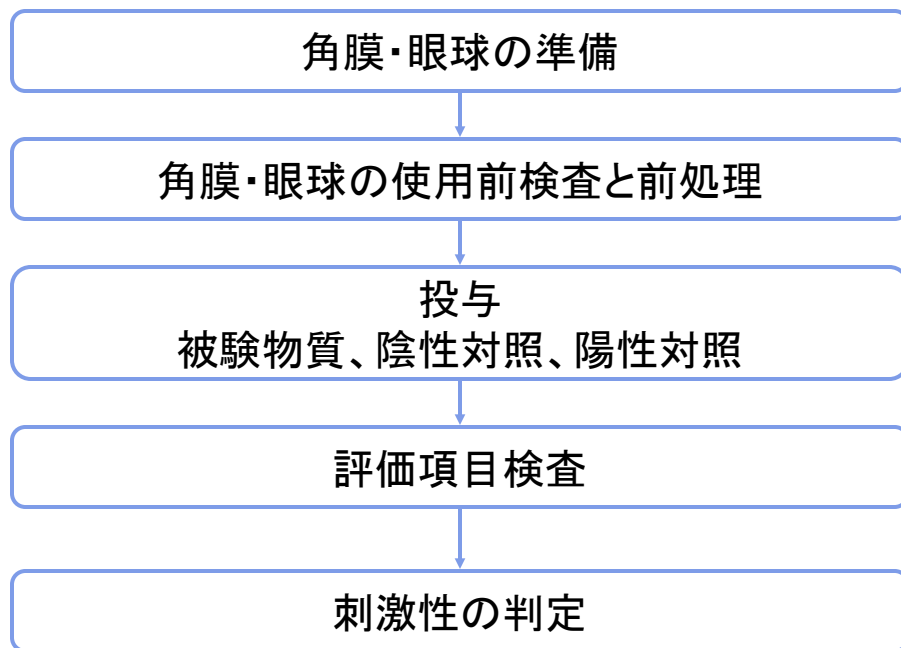
BCOPとICEについては、JaCVAM第三者評価委員会による評価が実施されており、本分科会としても医薬部外品の眼刺激性試験に用いることについて検討を進めた。

分科会での検討

第三者評価を受けた試験法の検討(試験法概要)



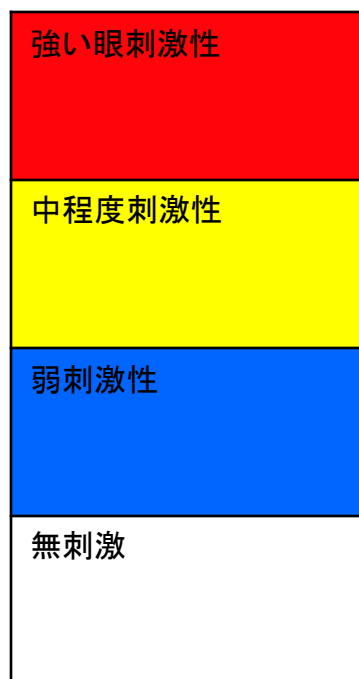
- BCOP法: ウシ眼球から採取した角膜を用い、被験物質の眼刺激性を評価。
- ICE法: ニワトリから摘出した眼球を用い、被験物質の眼刺激性を評価。



角膜の腫脹、角膜の混濁、角膜のフルオレセイン染色性、透過性、組織学的変化

分科会での検討

第三者評価を受けた試験法の検討(検討結果)

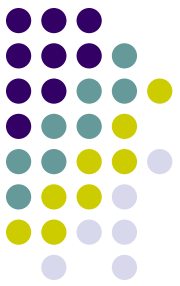


- **トップダウンアプローチ = 評価済み**
BCOP、ICEは化学物質の腐食性、及び強刺激性物質をスクリーニングする目的において使用することについては問題ないと判断(GHS、強眼刺激性の表示)



- **ボトムアップアプローチ = 未評価**
医薬部外品においては、弱刺激性、無刺激性を確認する必要があると考えられる。医薬部外品の眼刺激性試験として公的受入れのためには更なる科学的評価が必要。

国内・外において各種代替試験法のバリデーションと第三者評価が活発に進められている状況。評価された方法の中から弱刺激性・無刺激性物質の評価法として検討がされたものがあれば、医薬部外品製造販売承認申請における安全性試験・眼刺激性評価としての公的受け入れの可能性について検証する必要がある。



まとめ

- 厚生科学研究報告等に基づく検討を行った結果、部外品の眼刺激性評価における代替法の受入れの一条件として、Draize試験における眼刺激性との比較では弱刺激性(MAS15)以下を検出できるものであるかが重要と確認された。
- OECD Test Guideline #437と#438を第三者評価委員会の報告等に基づいて検討を行ったが、現時点では両法が強眼刺激性の評価法との位置づけであるため、部外品に広く受け入れるためには弱刺激以下の確認が行えるかについて更なる検討が必要と考えられた。
- 現在も国内外での眼刺激性代替試験法の開発が進められていることから、引き続き動向調査を行い、第三者評価された試験法については、部外品の受入れの検討を早急に実施することが重要である。

現状、部外品に利用できる方法が見出されていないことから、今後も第三者評価を受けたボトムアップアプローチの試験法に注目し、その長所・短所、適用条件などの検証を行い、部外品の製造販売承認申請における眼刺激性試験として利用することが可能か検討する必要がある。