

# JaCVAM第2回ワークショップ

平成21年4月17日

国立衛研 講堂

# 内容

- 1．バリデーションとは何か？
- 2．過去に実施されたバリデーション研究
- 3．現在進行中のバリデーション研究
- 4．日本におけるバリデーション研究の長短所
- 5．国際的な現状
- 6．今後の展望

# バリデーションとは何か？

# **OECD SERIES ON TESTING AND ASSESSMENT**

## **Number 34**

### **GUIDANCE DOCUMENT ON THE VALIDATION AND INTERNATIONAL ACCEPTANCE OF NEW OR UPDATED TEST METHODS FOR HAZARD ASSESSMENT**

I. APPROACHES TO VALIDATION

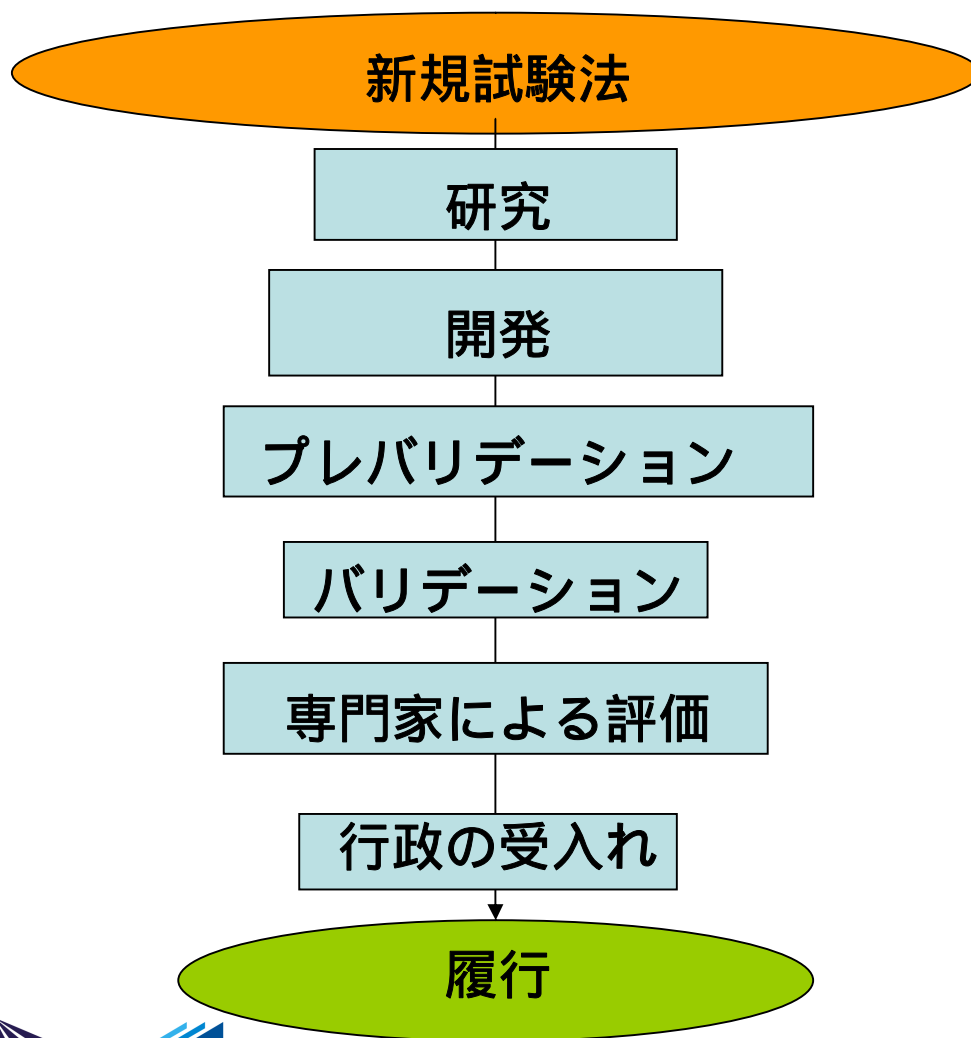
**II. DESIGN AND CONDUCT OF VALIDATION STUDIES**

III. INDEPENDENT EVALUATION OF A VALIDATION  
STUDY (PEER REVIEW)

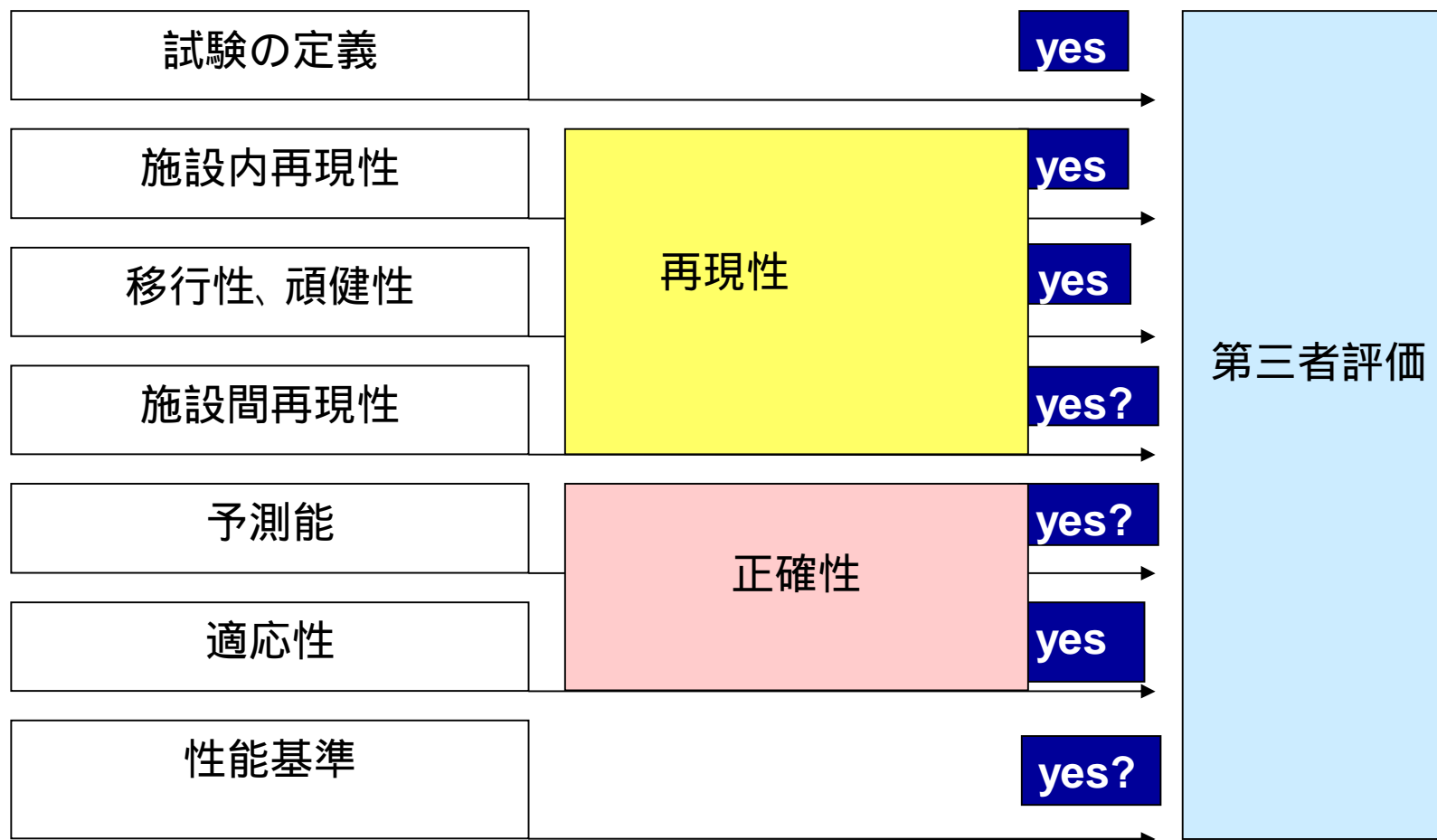
IV. INTERNATIONAL REGULATORY ACCEPTANCE OF  
VALIDATED TESTS

V. NEW TEST SUBMISSIONS: SUPPORTING  
DOCUMENTATION

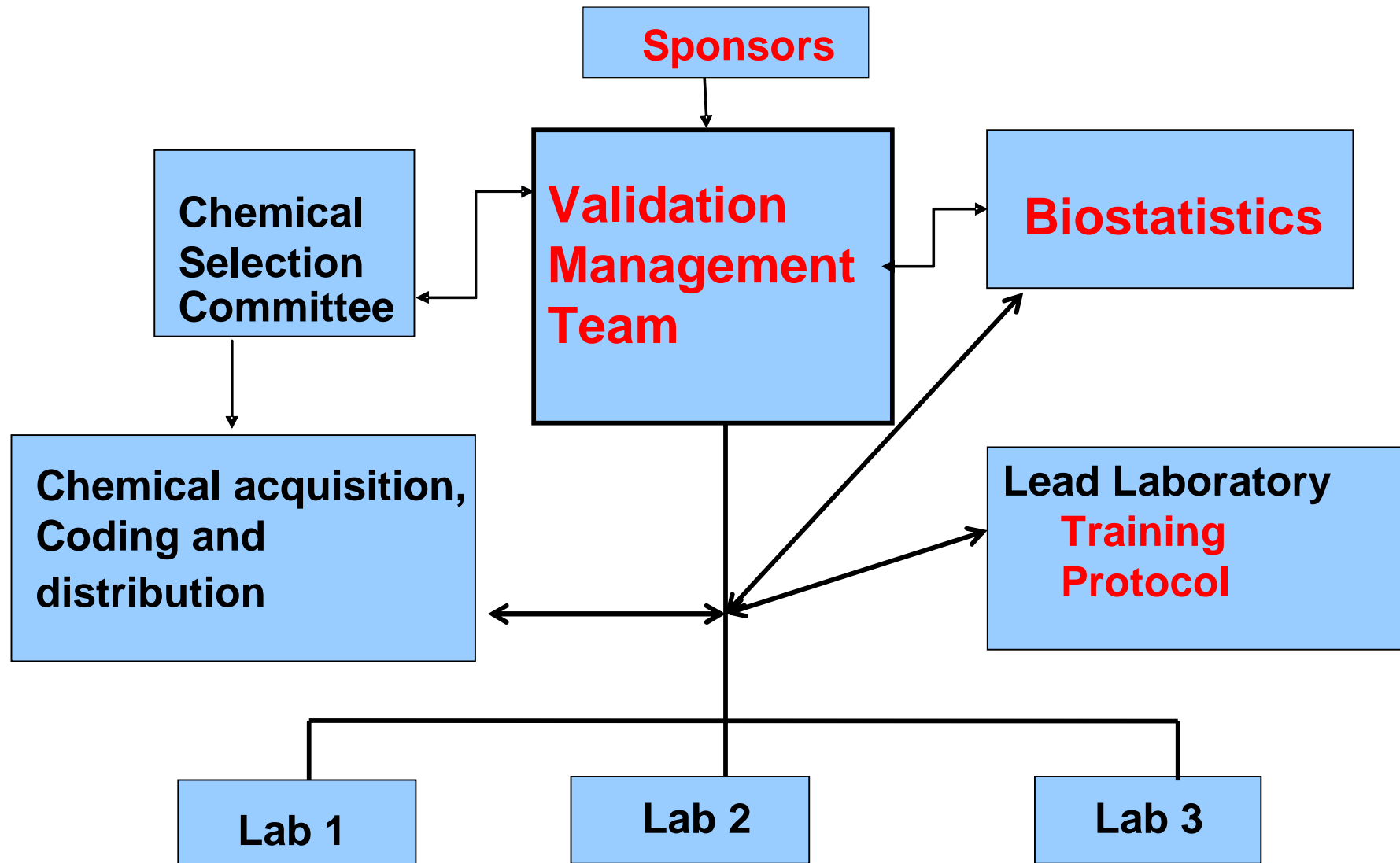
# 新規試験法開発の流れ



# バリデーションの検討項目\*



# Example of organization for validation study

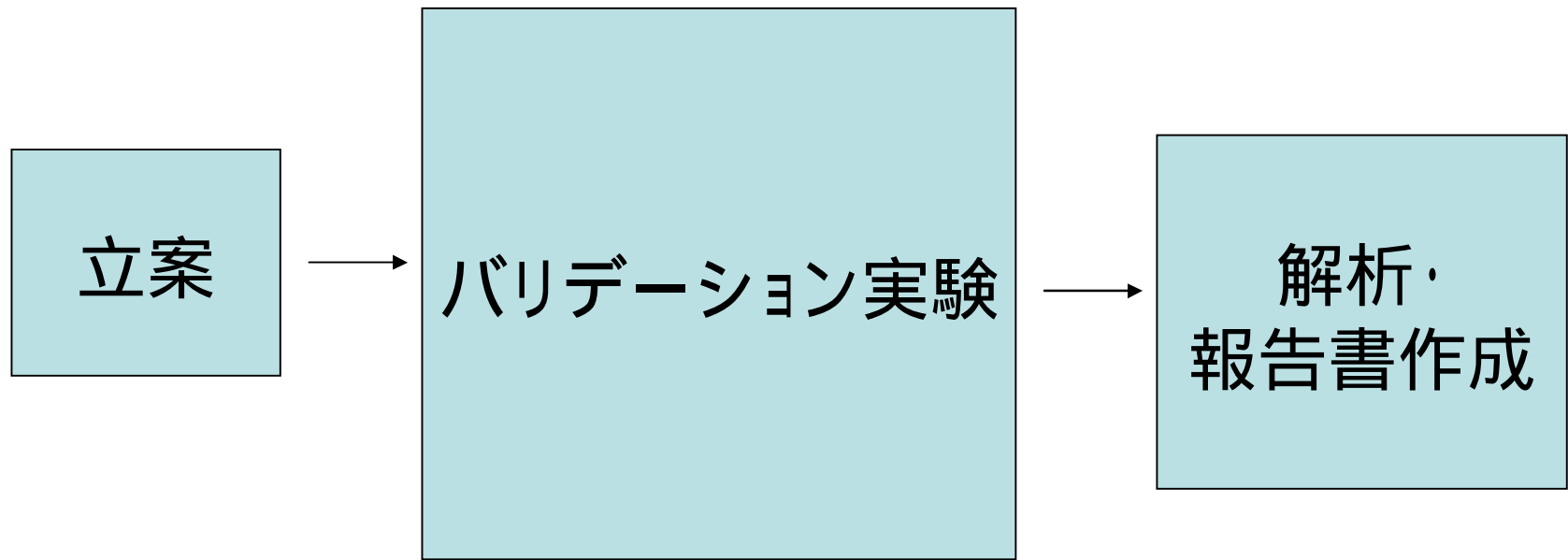


# 試験法評価にあたって最低限必要な情報 および項目

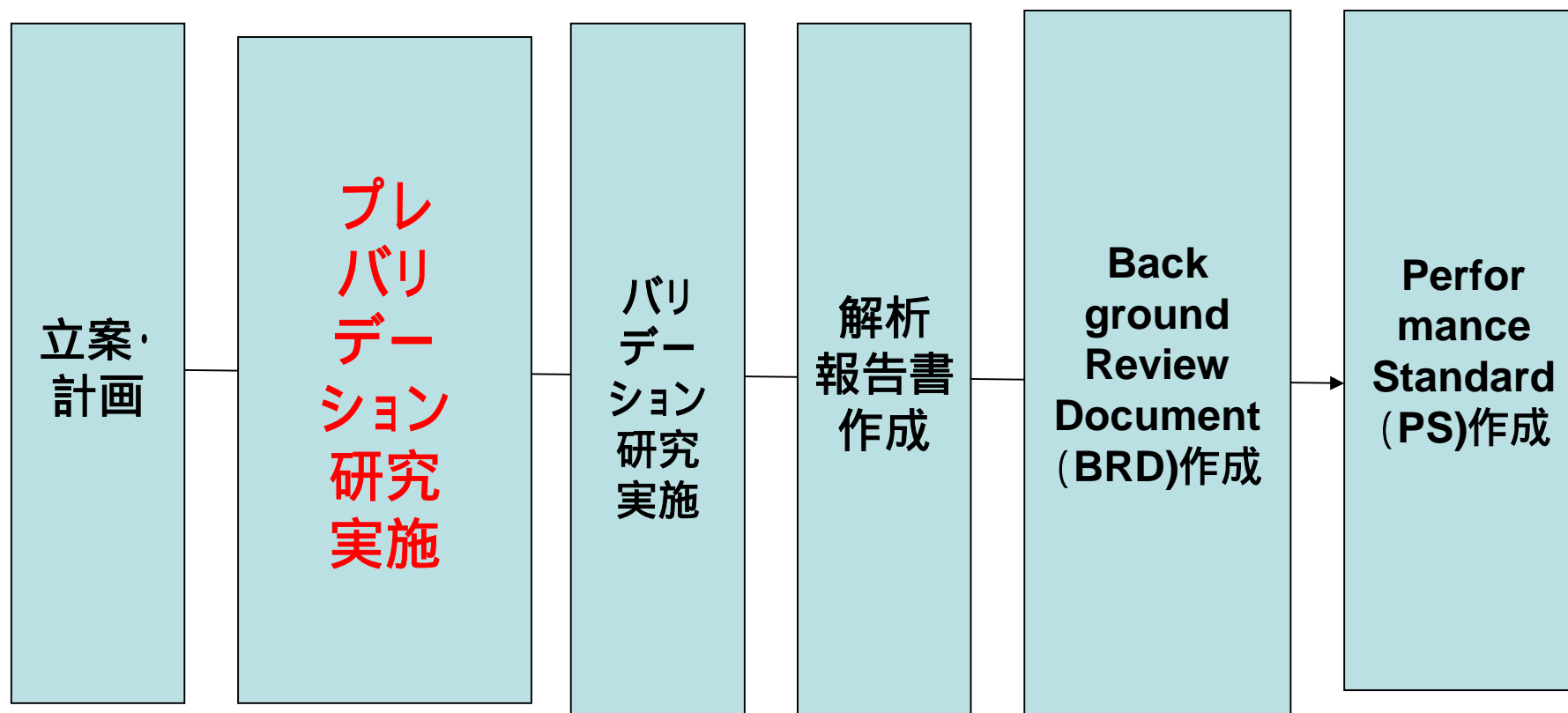
1. 試験法の科学的、規制の上での妥当性
2. 試験プロトコルの構成の妥当性
3. バリデーションに用いられた物質の分類
4. 試験法の正確性を評価する物質のin vitroおよび参照データ
5. データと結果の利用性
6. 試験法の正確性（再現性、頑健性）
7. 試験法の信頼性
8. データの質
9. 他の科学的的な報告との比較
10. 3Rsへの関与（動物福祉面からの妥当性）
11. 試験法の有用性と限界（コスト、時間からの妥当性など）
12. その他（特許の有無など）
13. 文献
14. 別添資料



# 日本人のバリデーション研究に対する意識



# 正式なバリデーション研究の過程と比重



# バリデーション研究の種類

- Pre-validation

主にプロトコル確定のために実施される

- Formal validation

施設内・施設間再現性、正確性の検証が主目的

- Catch-up validation (me-too validation)

Formal validation後に作られた performance standardに基づいて実施される小規模バリデーション



Formal validation

時間と経費、体力が必要



Catch-up validation

比較的に簡単に実施  
ただし、類似した試験法の  
バリデーションが終了していること

# バリデーション研究で掛かる年月と経費

## 1. 年月

- Pre-validation ~ Formal validation

5 ~ 10 年

- Catch-up validation

1 ~ 2 年

## 2. 経費 (ECVAMの例)

バリデーション研究1件あたり、2000万円程度



# 試験法の公定化で最も重要な点

## プロトコルの確立

- 論文となった方法がそのままガイドラインになることは極めて稀
- プレバリデーション研究とはphaseを重ねてプロトコルを改良していくもの
- 昨今のガイドラインには、採用基準と陽性基準が必要(極めて重要な問題)

# 過去に実施されたバリデーション研究



# ECVAM やICCVAMとの共同研究

- 眼刺激性試験：細胞毒性、赤血球試験（ECVAM, 食薬センター秦野研究所, COLIPA, 資生堂, 花王, メナード）
- 癌原性試験: トランスフォーメーション試験 (ECVAM, 食薬センター秦野研究所)
- 急性毒性試験 (OECD, NIHS, 食薬センター秦野研究所)
- 皮膚感作性試験：h-CLAT（COLIPA, 資生堂, 花王など）



# 日本国内におけるバリデーション研究

- 細胞毒性試験（日本動物実験代替法学会, 科学技術省）
- 眼刺激性試験代替（日本化粧品工業会、厚生科学研究）
- 光毒性試験（資生堂法）（日本動物実験代替法学会, 厚生労働科学研究）
- 皮膚刺激性試験: TESTSKIN™, VitroLife Skin™（日本動物実験代替法学会）
- 皮膚腐食性試験: EpiDerm™, VitroLife Skin™（日本動物実験代替法学会）
- 皮膚感作性試験：LLNA-DAおよびBrdU（日本動物実験代替法学会）

# 代替法学会の細胞毒性試験

- 特徴

- 1) 複数の細胞毒性試験に多数の施設が参加
- 2) 被験物質はブラインド、数は6

## 問題点

- ・この共同研究はプレバリデーション研究に該当し、バリデーション研究ではない。現実的にはむしろ、トレーニングに近い。
- ・大々的かつ先駆的であったが、日本人のバリデーション研究に誤解を与えた共同研究。
- ・結果もよくなく、国際的には評価されていない。

# 眼刺激性試験代替（日本化粧品工業会、厚生科学研究）

- 特徴
  - 1) 複数の試験法に多数の化粧品会社が参加
  - 2) 被験物質はブラインド、数は40
  - 3) in vivoは自前

## 問題点

- ・化粧品原料の10%水溶液しか予測できないため国際的な評価は低い。
- ・国内の化粧品会社も申請には使っていない。
- ・手を広げすぎて、バリデーション研究に誤解を浸透させた共同研究。

# 皮膚刺激性試験（日本動物実験代替法学会）

- 特徴

- 1) 複数の培養皮膚モデルに多数の施設が参加
- 2) 被験物質はブラインド、数は40

## 問題点

- ・化粧品原料に特定していることから国際的な評価は低い
- ・結果が芳しくない

# 皮膚感作性試験：LLNA-DAおよびBrdU（日本動物実験代替法学会）

- 特徴

- 1) 非RI-LLNAのために多数の施設が参加
- 2) 被験物質はブラインド、数は10 - 12

## 問題点

- ・ICATMを生むきっかけとなった。
- ・世界にperformance standardの重要性を明確に示したバリデーション研究。
- ・歴史になるか否かまだ不明？

# 現在進行中のバリデーション研究

# コメットアッセイの期待と問題点

## 期待

1. ICHとの絡みもあり、期待度高い
2. JaCVAMを有名にしたバリデーション研究
3. 国際的な評価も高い

## 問題点

1. ボランティア主体でノルマが設定しにくい
2. この方法自体の歴史から、統一プロトコール作成が極めて困難
3. Pre-validationに時間が掛かった

# Bhras cell transformation assay の期待と問題点

## 期待

1. 日本発のcell transformation assay
2. 簡便で検出力も高い
3. NEDO主体で資金的に恵まれている

## 問題点

1. 他のガイドラインとの関係をどうするか



# HeLa法の期待と問題点

## 期待

1. アゴニスト法はOECDガイドラインとして成立
2. 作用機構に立脚した試験法
3. 他のendocrine screeningの手本

## 問題点

1. アンタゴニスト系の技術移転が難しい
2. 複雑である

# STEへの期待と問題点

## 期待

1. 細胞毒性試験でありながら、化学物質原体の評価ができる
2. 簡便、バリデーション結果も良好

## 問題点

1. 適用濃度の相違
2. 他の代替法との兼ね合い

# LabCyteモデルへの期待と問題点

- 期待

1. 日本製のモデルとして安価、汎用性高い
2. バリデーション結果も良好

- 問題点

1. OECDガイドラインへの掲載の有無
2. 今後継続して利用できるか

# 日本におけるバリデーション研究の長短所



# 日本のバリデーション研究の長所

- 1．ボランティア精神に富み、真面目
- 2．データが正確で丁寧
- 3．プロトコルの遵守がなされている
- 4．実験期限を守る
- 5．優秀な統計学者がいる
- 6．代替法学会によりシステム化されている

# 日本のバリデーション研究の短所

- 1 . GLP施設での実施ではない場合が多い
- 2 . 参加者は、バリデーション研究を技術把握・トレーニングの機会と考えている
- 3 . 多数施設の参加 (GD 3 4 では 3 ~ 4 を推奨) により、データばらつき、技術移転がしにくくなる
- 4 . 報告書までしか作らない、しかも遅い (ボランティアの限界)
- 5 . Performance standard を作成をしたことがない
- 6 . データ管理方法が明確でない

# 日本のバリデーション研究の短所

7. 資金源は不足
8. 研究開発に比べ、遥かにレベルが下とされている(予算がつかない)
9. 十分な委託費を参加施設に払えない(ノルマはない)
10. ほとんどがcatch-upバリデーション研究しか経験がない上に、performance standardが普及していない
11. 結果をすぐに求め過ぎる

# 海外からみた日本のバリデーション研究の特徴

- 1) 参加施設が多い
- 2) いつまでたっても終わっていない
- 3) performance standard、me-to、catch-up  
という用語を理解していない

すなわち、OECD GD3 4を理解せずにバリ  
デーション研究を実施している

日本人が韓国の代替法学会を見る感覚



# 国際的な現状

# 2009年 OECDでの検討項目 内分泌かく乱物質検出関係試験法

- 1 **Hershberger bioassay**のテストガイドライン(案)
- 2 魚類21日間スクリーニング テストガイドライン(案)
- 3 両生類変態アッセイ テストガイドライン(案)
- 4 **ER STTAアッセイテストガイドライン(案)(TG455)**
- 5 内分泌かく乱作用の組織病理学的評価に関するガイドライン
- 6 **performanceに基づいたTGの作成について**

# 2009年OECDでの検討項目

## 一般試験法

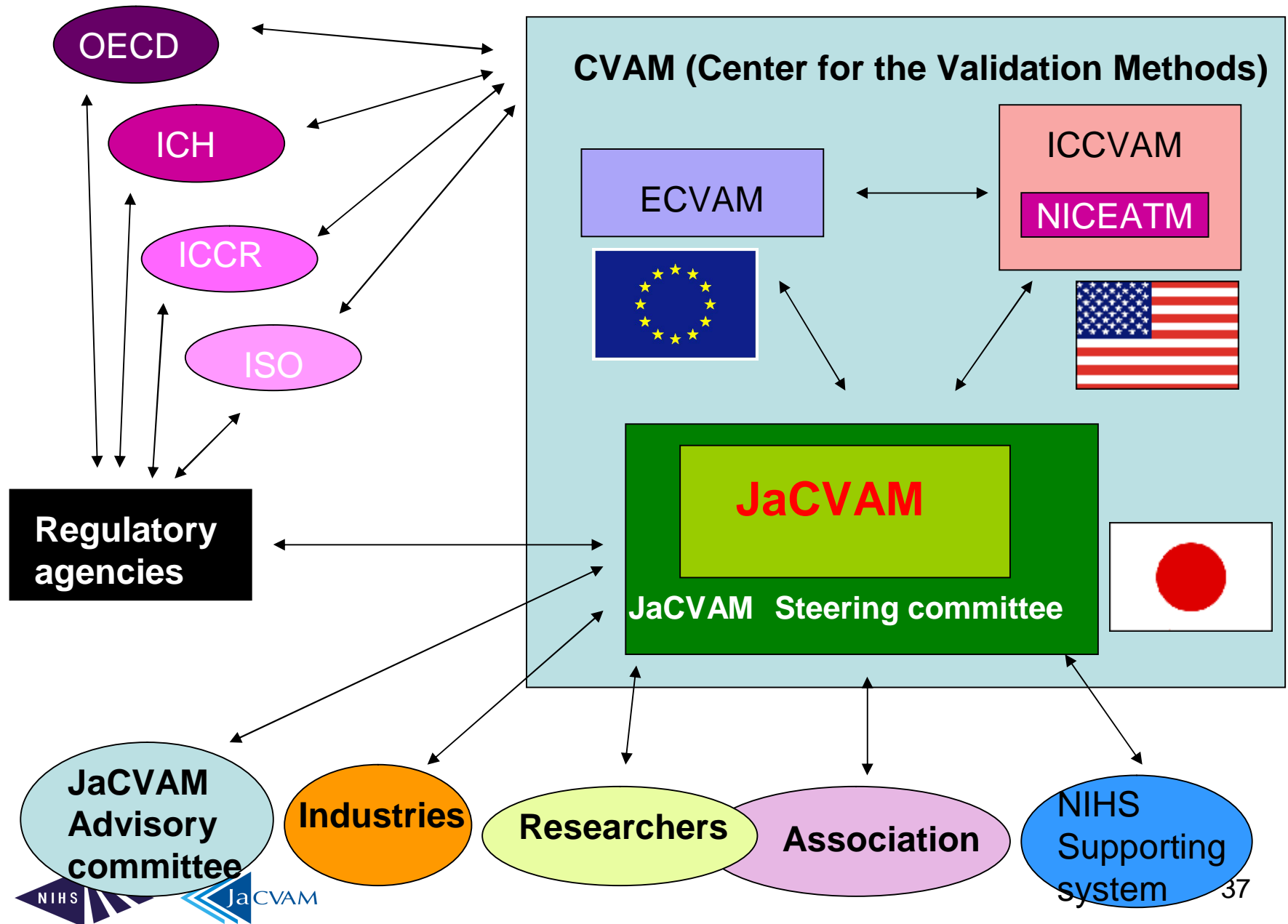
- 1 TG403(急性吸入毒性試験)の見直し案について
- 2 TG436案(TG403及びGD39の代替法として示されているもの)について
- 3 GD 39(急性毒性試験)案について
- 4 TG 412案(亜急性吸入毒性試験Subacute Inhalation Toxicity)、TG 413案(亜慢性吸入毒性試験Subchronic Inhalation Toxicity)について
- 5 TG 451(癌原性試験)案、TG 452(慢性毒性試験)案、TG 453(癌原性・慢性毒性試験 combine版)案について
- 6 TG451・452・453の見直しに係るGD(用量選択)案について
- 7 目に対する腐食性・刺激性に関するin vitro テストガイドライン案(ウシの目を用いるもの、鶏の目を用いるもの)について
- 8 トピムシを使用した生殖毒性試験案について
- 9 TG 211(ミジンコを使用した生殖毒性試験)案の見直しについて
- 10 遺伝子操作齧歯類の変異原性に係る試験法に関する詳細レビュー文書案について
- 11 防腐剤処置木材の環境影響についてのガイダンス案について
- 12 穀物に使用される農薬についてのガイダンス案
- 13 GD63(農薬の残留について)案
- 14 GD64(化学物質の残留についての包括的なガイダンス文書)の見直し案
- 15 延長一世代生殖毒性試験について
- 16 特殊なケースにおけるテストガイドライン承認プロセスの早期化について
- 17 魚類急性毒性試験案について
- 18 TG302Cリバイス案について



# 2009年 OECDに申請された試験法

- 1 . TG 429: Skin Sensitisation: Local Lymph Node Assay (USA); for a Non-Radioisotope version of the Local Lymph Node Assay (Japan);
- 2 . updating TG 430: *In vitro* Skin Corrosion: Transcutaneous Electrical Resistance Test (TER) (USA);
- 3 . TG 431: *In Vitro* Skin Corrosion: Human Skin Model Test (USA);
- 4 . TG for an *in vitro* human epidermal model to assess skin irritation: LabCyte EPI-MODEL24 (Japan);
- 5 . Developmental Reproductive Toxicity Test (UK)
- 6 . TG 211: Daphnia Reproduction test (Denmark)
- 7 . TG for a Protozoa Activated Sludge Test (Germany)
- 8 . Guidance Document on the derivation of an Acute Reference Concentration (ARfC) (USA)
- 9 . Guidance Document on using Cytotoxicity Tests to Estimate Starting Doses for Acute Oral Systemic Toxicity Tests (USA)

# Summary of International cooperation



# EUと米国の組織の違い

## EU

1991年 ECVAM設立

対応課題

- 2003年 化粧品規制
- 2007年 REACH

バリデーションに重点、  
peer reviewはESAC

## 米国

1997年 ICCVAM設立

・2005年 OECD GD34制定

代替法を検証するシステムを考案

peer reviewに重点



# JaCVAM活動

JaCVAM活動は、国立医薬品食品衛生研究所（国立衛研と記す） 安全性生物試験研究センター 薬理部 新規試験法評価室の業務として、国立衛研組織関係法令集第五十一条の六に定める「新規試験法評価室においては、業務関連物質の安全性に係る試験法の研究および評価に関することをつかさどる」のうち、業務関連物質の安全性に係る試験法の評価に関することとする。

## 各センターの組織比較

	組織母体	組織関連 法律	人員	
			全体	正規
ECVAM	EU DG Joint Research Center, Institute for Health and Consumer Protection	<i>Directive 86/609/E EC</i>	62	32
NICATM	ICCVAM	ICCVAM act法	20 (ILS Co.,と契約)	3
JaCVAM	国立衛研 新規試験法評価室を中心とする任意団体活動	なし	運営委員会 + 非常勤職員	新規試験法評価室1名

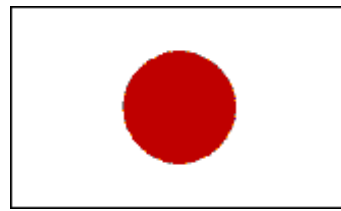


# 昨今の問題点

- Performance standardの普及が遅れた  
第三国による類似品開発やREACHの認識  
が遅かった
- LLNAのperformance standardを欧米がほ  
ぼ同時に作り出した(資源の無駄)
- KOCVAMやBraCVAMが設立  
欧米からみるとJaCVAMに加え、新たな火種

# The Proposal

## International Cooperation on Alternative Test Methods (ICATM)



# Critical Area #1: Validation Studies

- **Key Aspects of Cooperation:**
  - Information Sharing *Prior to* Validation Effort; **Lead Member will provide to other members:**
    - Study objectives
    - Specific regulatory testing purpose
    - Proposed validation study design
    - Detailed study protocols
    - Substances to be tested, and the basis for their selection
  - **Objective:** Develop consensus on critical aspects of validation studies before the validation study starts!

# ICATM Purpose

To promote international cooperation, collaboration, and communication among national validation organizations in order to:

- Ensure optimal design and conduct of validation studies
  - That will support national and international regulatory decisions on alternative methods proposed for regulatory testing.
- Ensure high quality independent scientific peer reviews
  - Provide for transparency and the opportunity for stakeholder involvement
- Enhance likelihood of harmonized recommendations by national validation organizations
  - More rapid international adoption of alternative methods
- Avoid duplication of effort and leverage limited resources to achieve greater efficiency and effectiveness

# ICATM Proposed Membership

- a. ICATM is a *voluntary* international group of validation organizations from the United States, Japan, the European Union, and Canada.
- b. The four initial ICATM members are:
  - **NICEATM-ICCVAM**
  - **ECVAM-ESAC**
  - **JaCVAM**
  - **Health Canada**
- c. The inclusion of other members and their appropriate status can be decided by consensus by the members.

# International Cooperation on Alternative Test Methods

- Provides a framework for enhanced international cooperation, collaboration and communication in **three related but independent critical stages**:
  1. Test method validation studies
  2. Independent peer review of the validation status of test methods
  3. Development of formal test method recommendations
- *Recognizes that consistent and effective cooperation, collaboration, and communication are essential during ALL three stages in order to support and achieve international regulatory acceptance of alternative test methods within the shortest possible timeframe in the most efficient manner*

# ICATMとOECDの関係

## 1 . ICATMの最終目標

OECDガイドライン

## 2 . ICATMと他の組織との関係

・ ICCR

・ ICH

・ ISO

# 今後の展望



# ICATMに対応する日本の問題点

1. ICATMは政府組織の代替法センターしか登録できない。

JaCVAMは相応しいのか。正式な組織を作るべきではないか？

2. どこまで協力するのか。

できる範囲で……

経費や人材不足は避けられない。経済産業省や日本学術会議への呼び掛け？

# 日本の国際化への問題点

1. 文書はすべて英語になる
2. 会議もすべて英語で行う
3. 予算と欧米人の要望とのギャップ  
会議、被験物質数、英訳等の予算
4. 日本提案の試験法が必要
5. 試験法の特許取得が必須

# 日本の国際化への問題点

## バリデーション研究

1. ICATMに合意に従い、VMTには他国の代表を加える
  2. バリデーション終了後にすべきことの経験不足
- ・ Background review document作成
  - ・ performance Standardの作成

# JaCVAMは何ができるのか？

## 何をすればいいのか？

- ・ 試験法開発者の利益を守り、外貨をかせぐ
- ・ 海外で開発された方法への理不尽な外貨流出を防ぐ
- ・ 化学物質から健康を守る

そのために、

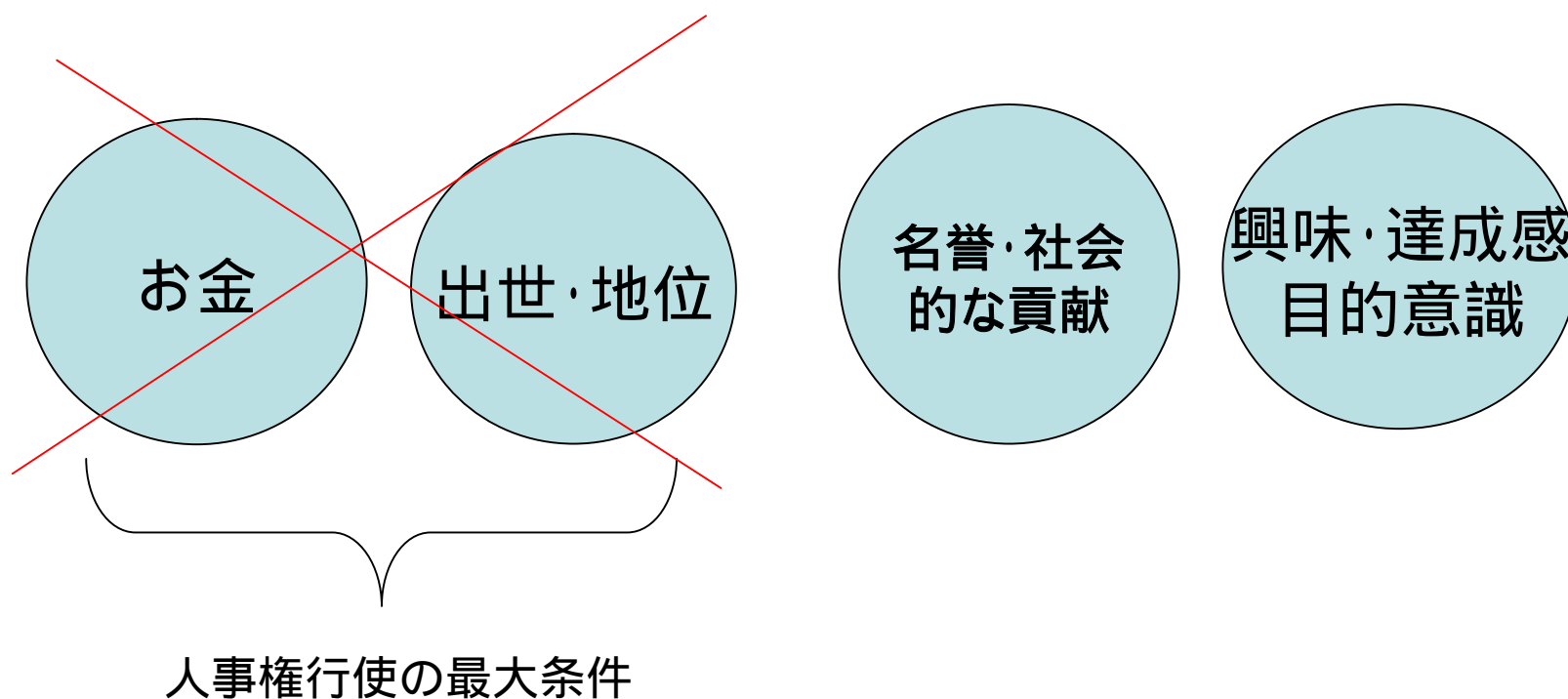
- ・ 権威ある公的な機関となる  
(国の代表機関となる)
- ・ 協力者が名誉であると思わせる工夫  
(偉い方から委嘱状が届く、後世に称えられる)
- ・ 海外から実力のある機関と認められる必要がある  
(実績を積むしかない)
- ・ 何とか協力者に不自由のない資金を確保する



# JaCVAMの目指すもの

- 化学物質等の安全性担保  
21世紀は動物実験からの脱却がテーマ
- 試験法は国際的に共通であるべき  
**OECDガイドラインを目指す**
- 業界・行政は試験法を使いこなす手順を検討

# JaCVAMへの協力で得られるもの



# 皆さんへのお願い

- 作用機構に立脚した試験法の開発  
(これでまず特許を取る)  
受託を立ち上げる、使用料を取る  
経済的な行為に発展させて頂きたい
- ・ 共同研究(プレバリデーション)でプロトコルを磨く  
施設のレベルアップにつなげる
- ・ バリデーション研究への献身
- ・ 学会にはトレーニングシステムの確立をお願いします。



御清聴ありがとうございました

皆さん、大変な時代ですが、元気を出していきましょう。

