

日本化粧品工業連合会の 3Rsへの取り組み

日本化粧品工業連合会
技術委員会
動物実験代替専門委員会
板垣 宏

代替法開発に関する歴史

1980

1990

2000

2010

USA

動物実験反対運動
化粧品の不買運動

化粧品企業の動物
実験廃止宣言

Johns Hopkins 大学動物実験
代替法センター CAAT ('81)

第1回国際動物実験
代替法会議 ('93)

代替法検証省庁間連絡委員会
ICCVAM ('97)

EU

動物実験反対運動

化粧品指令第6次改正 ('93)

化粧品指令第7次改正 ('03)

医学実験用動物代替基金
FRAME ('73)

欧州代替法検証センター
ECVAM ('91)

ホローニャ宣言
('99)

欧州パートナーシップ
EPAA ('05)

日本

動物実験反対運動

改正動物愛護管理法 ('05)

日本動物実験代替法学会 ('89)

眼刺激性試験代替法としての細胞
毒性試験のバリデーション ('91 ~ '98)

第6回国際動物実験
代替法会議 ('07)

厚生科学研究「眼刺激性試験代替法の
調査・バリデーション」('90 ~ '98)

皮膚刺激性試験代替
法のバリデーション
('00 ~ '02)

粧工連:
安全性部会
('79)

粧工連:動物実験代替
専門委員会('91)

眼刺激性代替法
指針作成('99)

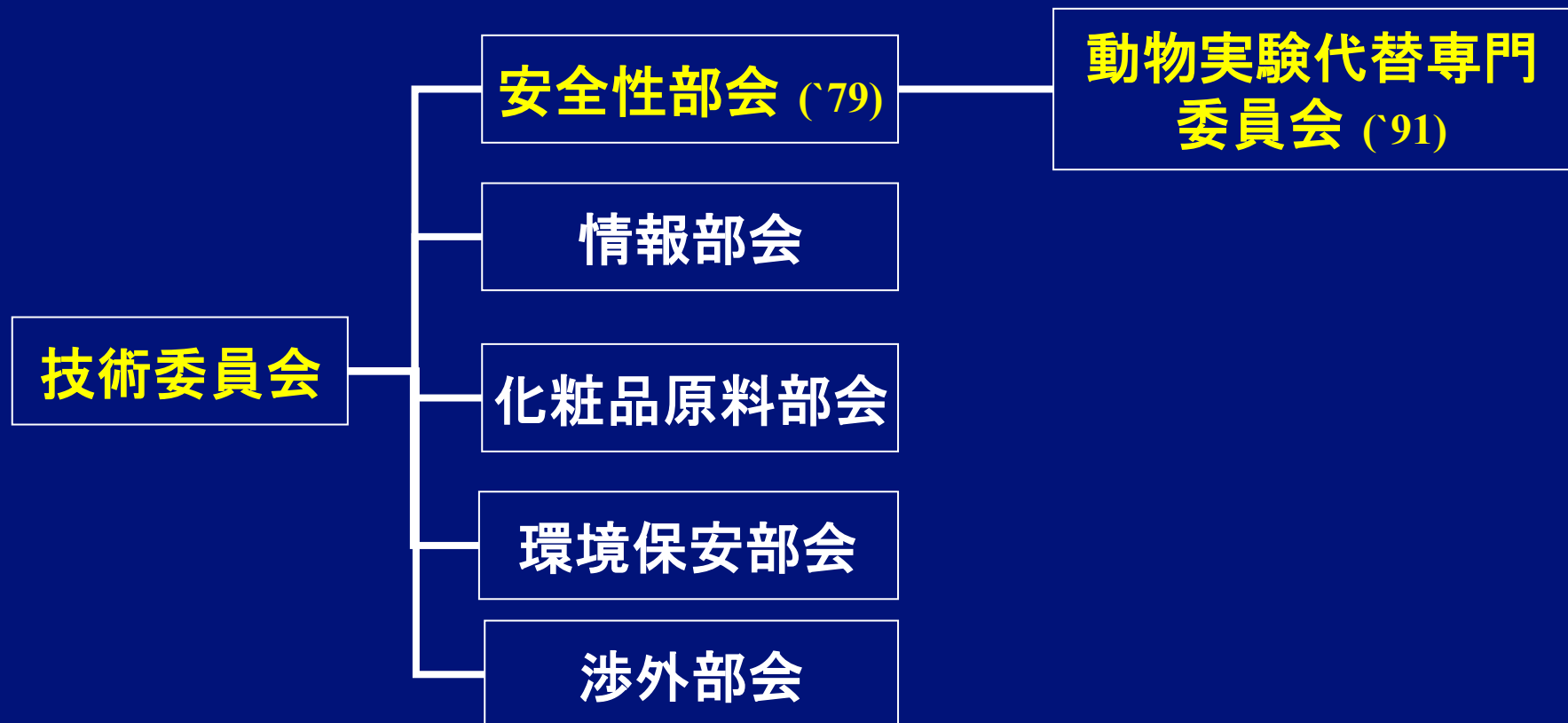
日本代替法検証センター
JaCVAM ('05)

部外品
申請の
あり方
検討会
('07)

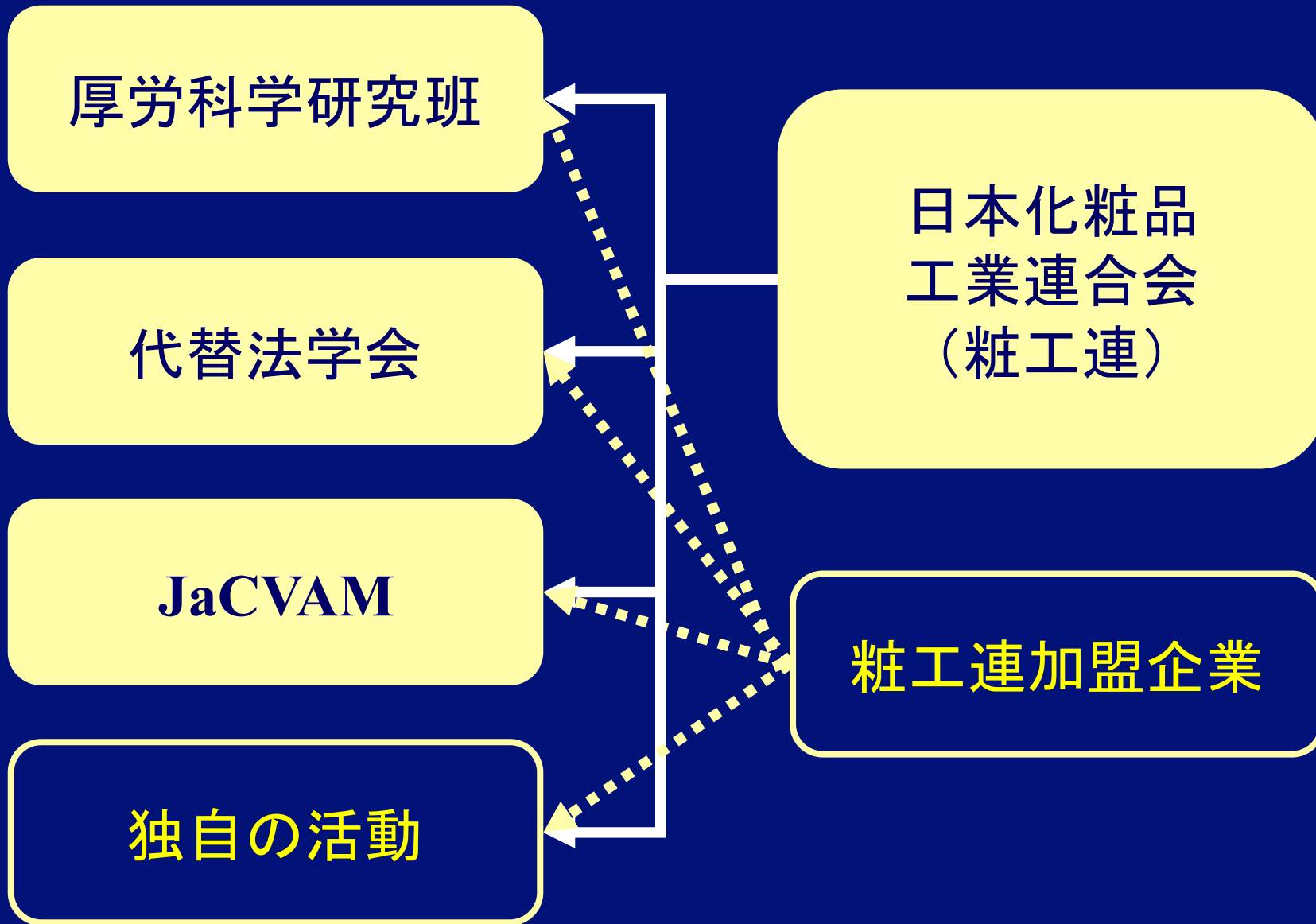
日本化粧品工業連合会の紹介

日本化粧品工業連合会(粧工連)

- 設立: 1959年7月
- 加盟企業: 1006社 (2010年11月現在)



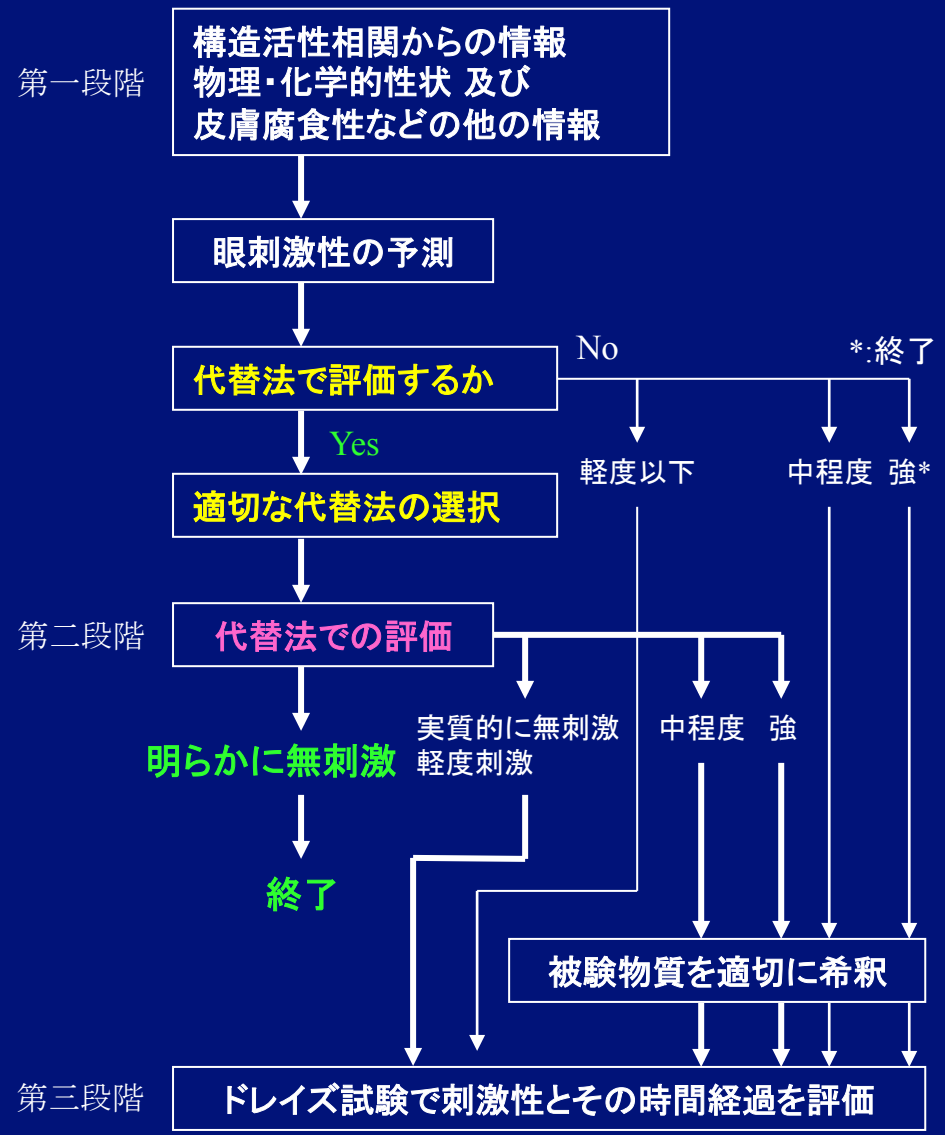
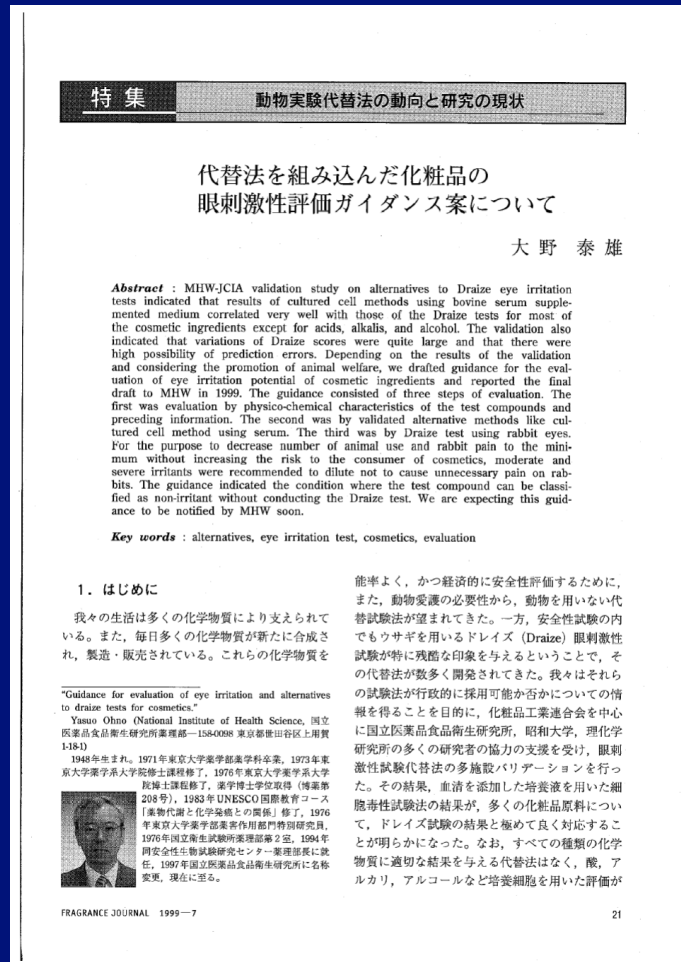
粧工連及び加盟企業の3Rsへの取り組み



厚生科学研究班への粧工連の協力

眼刺激性試験代替法の調査、バリデーションと結果の評価、指針作成(1990~1998)

バリデーション: 粧工連加盟企業18社、
国衛研3部、大学2、
キットメーカー4社、理化研、
CRO1社



厚生労働科学研究班への粧工連の協力

粧工連並びに加盟企業は厚生労働科学研究班に対して1990年以降、継続して積極的に協力してきた。

- 「国際協調を重視した化粧品・医薬部外品における安全性試験法の再評価に関する研究」(2010～2012)
 - ・代替法に関する国際情勢の調査、あり方検討会
- 「動物実験代替法を用いた安全性評価体制の確立と国際協調に関する研究」(2007～2009)
 - ・代替法に関する国際情勢の調査、あり方検討会
 - ・h-CLATのring study (加盟企業)
- 「安全性評価のための動物実験代替法の開発および評価体制の確立に関する研究」(2004～2006)
 - ・代替法に関する国際情勢の調査
 - ・h-CLATのring study, 光毒性試験代替法のvalidation(赤血球&酵母)(加盟企業)
- 「動物実験代替法の開発と利用に関する調査研究」(2001～2003)
 - ・代替法に関する国際情勢の調査
 - ・OECD毒性ガイドライン432(光毒性・3T3 NRU PT)のvalidation、提案されたOECD毒性ガイドライン案の評価(加盟企業)

厚生労働科学研究費補助金(医薬安全総合研究事業)
分担研究報告書
「動物実験代替法を用いた安全性評価体制の確立と国際協調に関する研究」
「代替法に関する国際情勢の調査」

分担研究者 板垣 宏 日本化粧品工業連合会、技術委員会動物実験代替法専門委員会委員長
研究協力者 坂本 裕子、荒島 雅和、加藤 謙次、金森 健之、川上 幸治、飛田 裕史、坂口 貴代、坂口 美、坂口 真由美、實川 節子、瀬戸 洋一、中村 信彰、萩野 福庭、矢作 彰一、加賀 光明

研究要旨
本邦における動物実験代替法の開発と評価を推進するためには、関連する国際情勢の調査は必要不可欠な研究活動である。特にEUでは、2003年3月に公布され2009年3月11日に発効した「化粧品指令第7次改正」と2007年6月1日に発効した「化学物質の登録と規制(REACH)」のため、ICVAMを中心に動物実験代替法の開発と評価は非常に進展している。一方、米国においてはICVAMが中心となって代替法の評価が進んでいる。近年、代替法の開発と評価はグローバル化が加速し、国際的な協力体制が鍵を握っており、本邦における対応策策定にはこれら国際情勢の調査・把握は重要である。

本年度の特筆すべき動きは、ICVAMが2009年4月27日に調印式を終え、正式に発効したことが挙げられる。2009年9月9日～11日にICVAM(第3回)化学法規制協力国際会議が東京で開催され、国際貿易への障壁を最小化しつつ、世界的に最高レベルでの消費者保護を維持する目的で、化粧品関連の問題について議論された。

EUにおいては、ESACが水溶性物質の経口毒性と強刺激性並びに水溶性の界面活性剤の無刺激性を確認するための試験法としてCytosensor Microphysiometerを、水溶性物質の経口毒性と強刺激性を確認する試験法としてFluorescein Leakageを承認したことが挙げられる。

米国においては、感作性試験代替法について、従来のLLNAから動物数を削減したrLLNA並びに非-rLLNA(LLNA:DA及びLLNA:Indo-3LISA)が規制付で感作性、非感作性物質の識別に利用可能であるとICVAMの第三者科学者評定委員会が勧告したことが挙げられる。

日本においては、JACVAMに設定された皮膚刺激性、皮膚感作性、眼刺激性、急性毒性を評価する第三者委員会の活動が本格稼働したことが挙げられる。この作業に対応する目的で、日本化粧品工業連合会内にタスクフォースが作られた。また、厚生労働科学研究班における「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」活動が進展し、報告会が開催された。

このように国内外の代替法に関する情勢は急速に変化しており、関連情報を継続的に収集分析し、その結果を公表していくことは、本邦における動物実験代替法の開発と評価を推進するうえで必要と考えられる。

A. 研究目的
本邦における動物実験代替法の開発と評価を推進するためには、関連する国際情勢の調査は必要不可欠な研究活動である。特にEUでは、2003年3月11日に公布され、2009年3月11日に発効した「化粧品指令第7次改正」(2003/15/EC)と2007年6月1日に発効した「化学物質の登録と規制」(Registration Evaluation and Authorization of Chemicals; REACH)のため、欧州代替法検証センター(European Centre for the Validation of Alternative Methods; EC3AM)を中心とする動物実験代替法開発と評価は非常に進展している。一方、米国においては代替法検証省庁間連絡委員会(Intersagency Coordinating Committee on the Validation of Alternative Methods; ICCVAM)が中心となって代替法の評価が進行している。最近では、代替法試験協力国際会議(International Cooperation on Alternative Test Methods; ICAITM)の設立に見られるように国際的なバリエーションや専門家による第三者評価の体制が鍵を握っており、今後、代替法の開発と評価はグローバル化が加速するものと考えられ、本邦における対応

厚生労働科学研究班への粧工連の協力事例

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
あり方検討会報告
要旨集

平成21年12月10日(木)10:00-16:30
大田区産業プラザ(東京都大田区南蒲田)

国立医薬品食品衛生研究所
薬理部 新規試験法評価室

あり方検討会 (総括委員会)

粧工連 3名
皮膚科医 2名
国衛研 3名
代替法学会 1名

オブザーバー
厚労省 2名
PMDA 2名

<各分科会の構成>
・粧工連の代表
・医師
・毒性試験の専門家
・代替法学会の推薦者
・事務局
計5~6名

眼刺激性

皮膚
刺激性

光関連
毒性

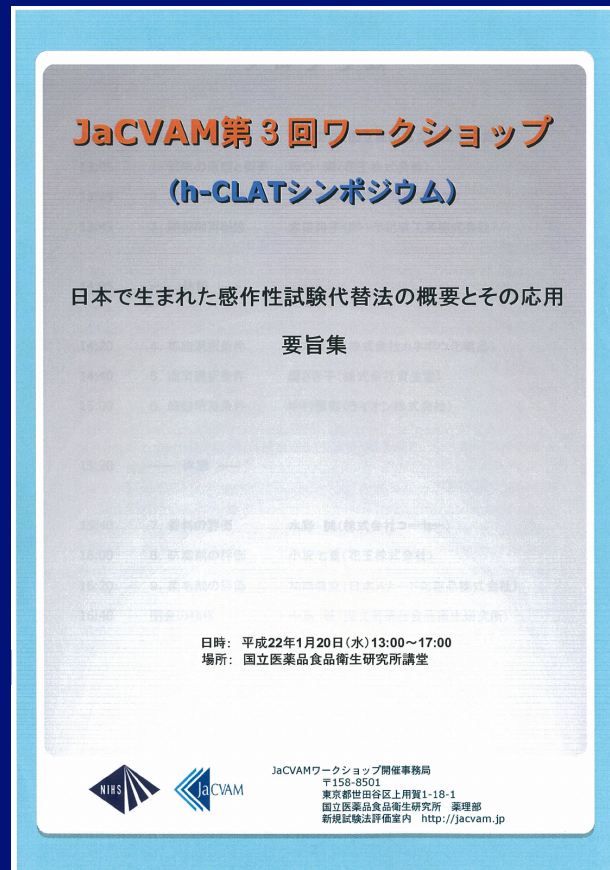
感作性

遺伝
毒性

皮膚
透過性

あり方検討会: 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

厚生労働科学研究班への加盟企業の協力事例



h-CLATのring study



OECD毒性ガイドライン432 (光毒性・3T3 NRU PT) の validation、提案されたガイドライン案の評価

日本動物実験代替法学会への粧工連の協力

会員

・正会員：330

(化粧品企業の研究者：16%)

・賛助会員プラチナ：

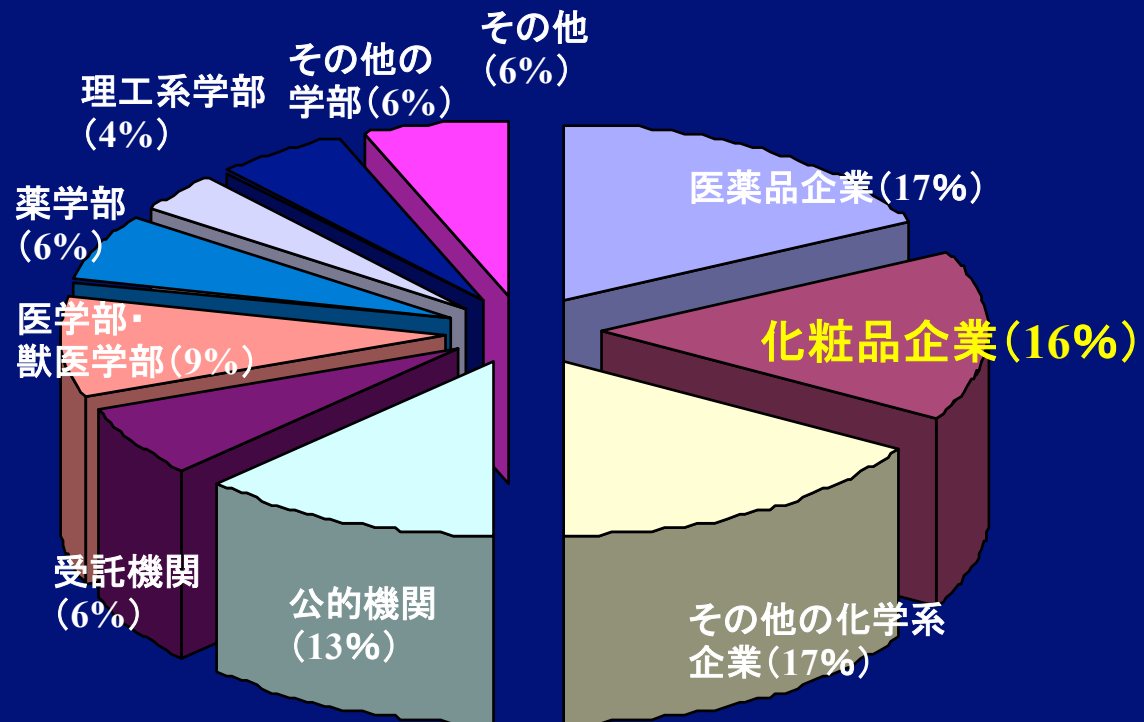
粧工連(学会発足時～)

2007年のデータ

・評議員：11/63

(化粧品企業の研究者：17%)

2011年度のデータ



企業 : 50%
大学 : 25%
公的機関 : 13%
その他 : 12%

日本動物実験代替法学会への粧工連の協力

粧工連は、日本動物実験代替法学会（以下、代替法学会と略）に対し、学会発足時から特別賛助会員（現、賛助会員プラチナ）として、さらに過去の年次大会等では動物試験の規制や代替法開発に関する国際的情報を提供することにより協力してきた。また粧工連加盟企業は代替法学会が企画した眼刺激性試験代替法や皮膚刺激性試験代替法のバリテーションには積極的に参加してきた。

●大会等における情報提供（2000年以降でも5回）

“ The Present Status of Alternatives to Animal Experiments in JCIA ” （2007:WC）

“EUにおける動物実験の規制”（2004）

“化粧品業界における動物実験代替法の取り組みの現状”（2003）

“欧州における化粧品規制と動物実験代替法の現状”（2002）

“化粧品の安全性評価における動物実験代替法：事例a”（2000）

●粧工連加盟企業が参加したバリテーション

眼刺激性試験代替法（細胞毒性）

皮膚刺激性試験代替法（市販キット）

加盟企業が開発・評価した試験法

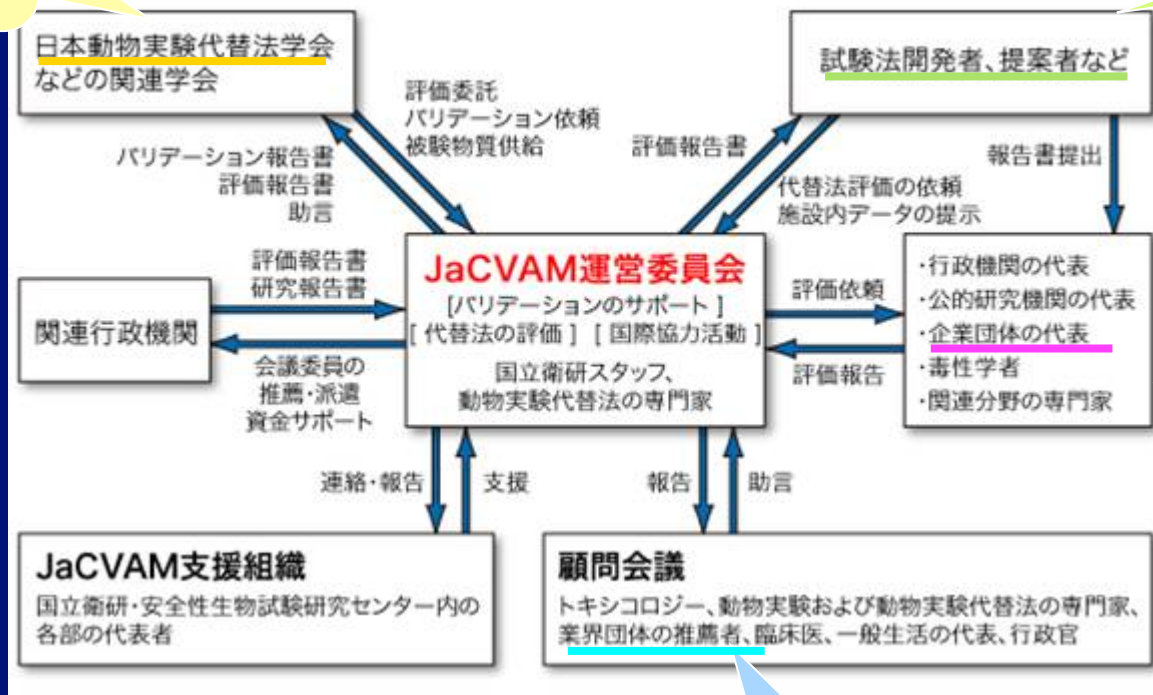
	試験法	加盟企業が開発・評価した試験法	ring study or validation 実施中
1	単回投与毒性試験	細胞毒性	
2	皮膚一次刺激性試験	皮膚モデル	皮膚モデル (Labocyte)
3	連続皮膚刺激性試験		
4	感作性試験	h-CLAT, ペプチド結合、SH assay、 ROS assay, in silico、	h-CLAT
5	光毒性試験	光細胞毒性、酵母 & 赤血球のbattery 皮膚モデル、ヘモグロビン光酸化、一重 光酸素発生測定	光細胞毒性、酵母 & 赤血球のbattery
6	光感作性試験	光h-CLAT	
7	眼刺激性試験	細胞毒性、HET-CAM, CAM-TB, 真皮モデル、赤血球、蛋白変性、 STE assay、リポソーム蛍光溶出	細胞毒性、 STE assay
8	変異原性試験	皮膚モデル小核	
9	ヒトパッチテスト	in silico	
	(経皮吸収試験)	摘出皮膚、in silico	
	(感覚刺激性)		

JaCVAMへの粧工連・加盟企業の協力

validation
ring study
への参加

新規試験法
の提案

JaCVAMの運営組織/評価システム



評価委員会
評価会議
への参加

顧問会議
への参加

JaCVAM評価委員会・評価会議への協力

<評価委員会の構成>

各試験法の専門家

大学

公的研究機関(国衛研)

業会の専門家(粧工連)

機構

事務局

JaCVAM評価会議
(広範な立場で日本としての受け入れ検討)

JaCVAM評価委員会(各試験法ごと)
(化学物質の新規評価法としての妥当性検討)

粧工連内のタスクフォース

- 単回投与毒性
- 眼刺激性
- 皮膚刺激性
- 感作性

<評価会議の構成>

各学会の代表

代替法学会

トキシコロジー学会

環境変異原学会

実験動物学会 等

各業会の代表

粧工連

製薬協

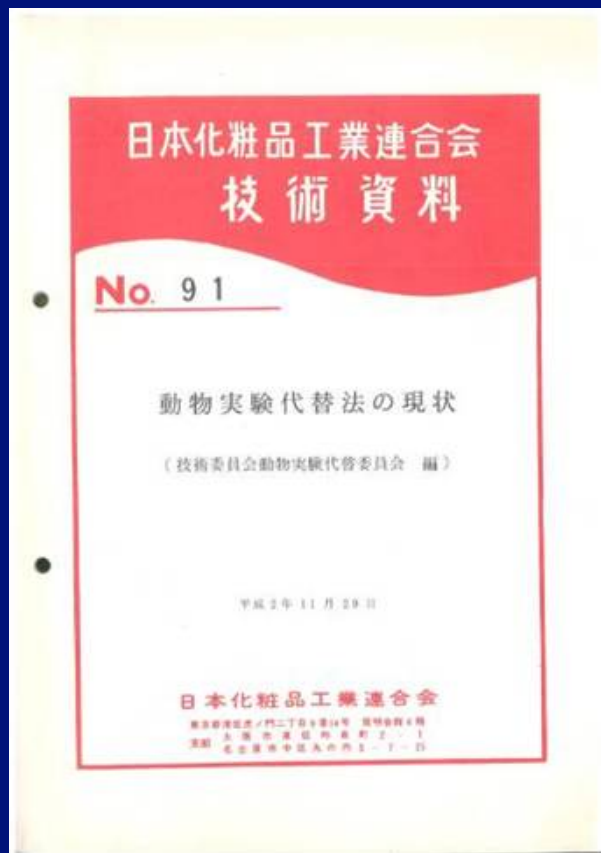
日化協

国衛研の関係者

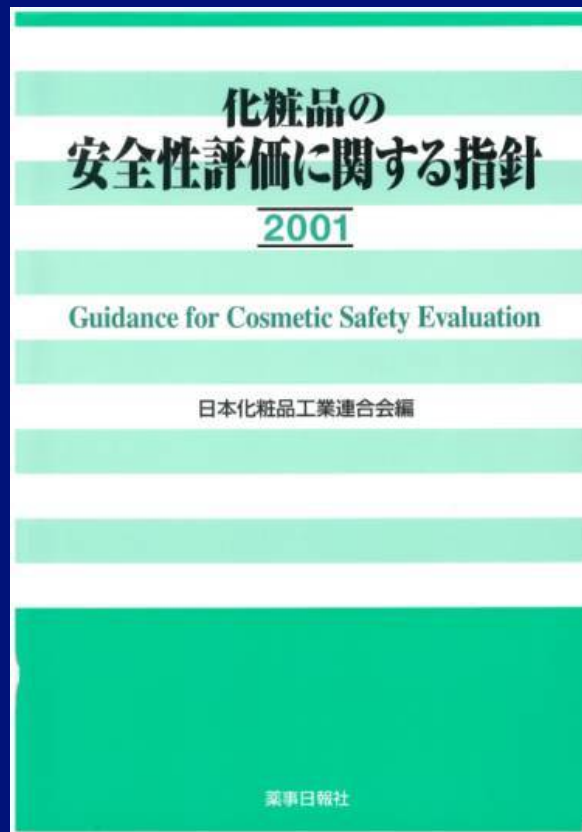
機構・厚労省

事務局

粧工連が編集した代替法を記載した印刷物



1990



2001



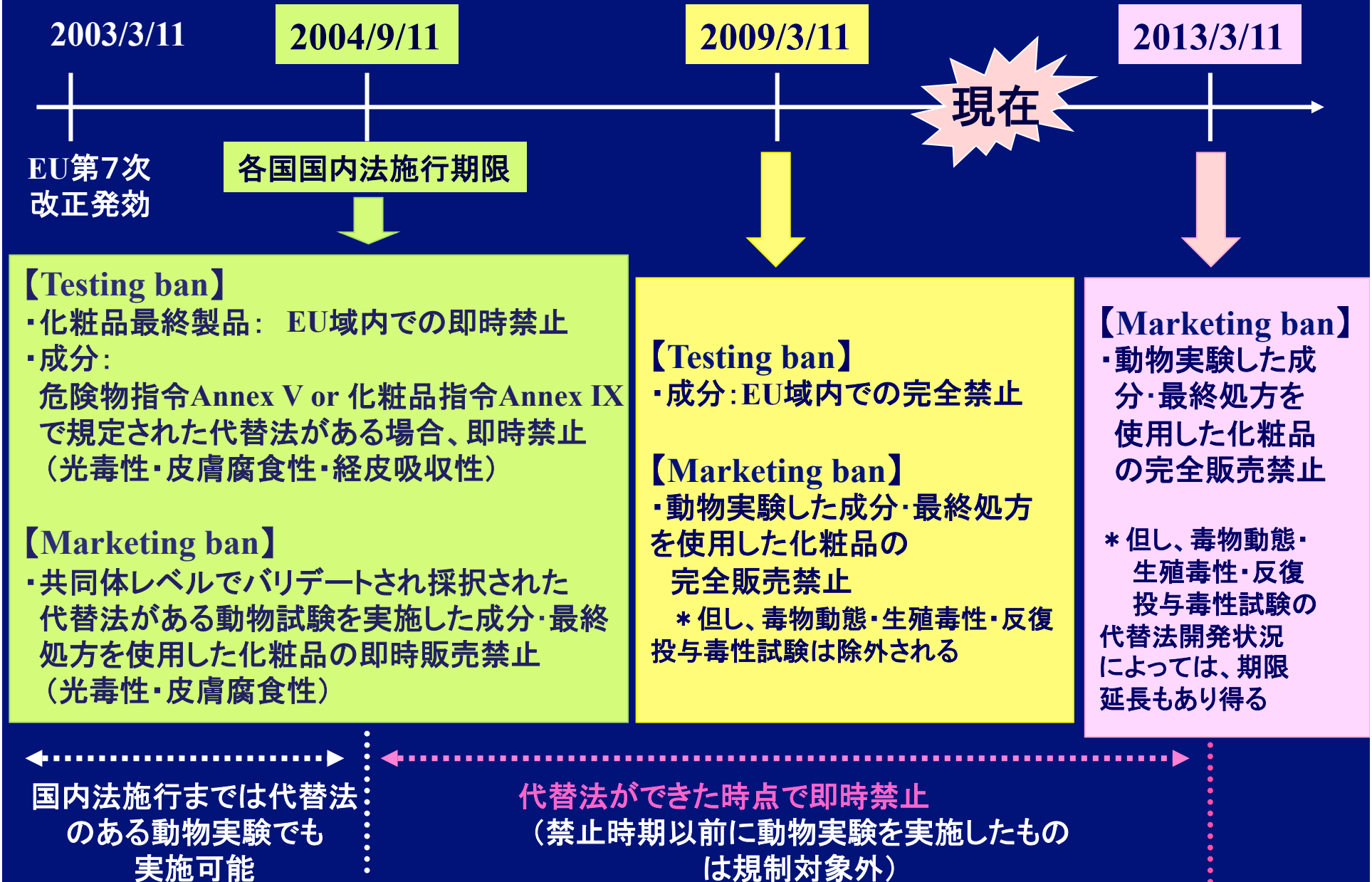
2008

化粧品，医薬部外品の一般的な安全性試験項目

	項目	調べる内容
1	単回投与毒性試験	一回の投与による全身への影響を調べる (誤飲誤食に対応する基礎データとする)
2	皮膚一次刺激性試験	皮膚に塗布した場合の刺激性を調べる
3	連続皮膚刺激性試験	皮膚に繰り返し塗布した場合の刺激性を調べる
4	感作性試験	皮膚に塗布した場合にアレルギーが起こらないかを調べる
5	光毒性試験	化粧品を塗布した皮膚に光が当たった場合の刺激性を調べる
6	光感作性試験	化粧品を塗布した皮膚に光が当たった場合にアレルギーが起こらないかを調べる
7	眼刺激性試験	誤って目に入った場合の刺激性を調べる
8	変異原性試験	遺伝子への影響を調べる
9	ヒトパッチテスト	ヒトで皮膚に刺激のないことを調べる
10	反復投与毒性試験	繰り返し投与による全身への影響を調べる
11	生殖・発生毒性試験	次世代への影響を調べる
12	吸収・分布・代謝・排泄	皮膚に塗布した物質の身体への吸収 及び身体中での動きを調べる

化粧品は企業責任で設定されるが，一般的には表中の1～9，医薬部外品は1～12.

EU化粧品指令第7次改正



European Partnershipと総合科学研究

European Partnership for Alternative Approaches to Animal Testing (2005年11月7日)

適切な資金・資源の提供を通して、代替法の開発やバリデーションを加速し、安全性評価のための代替法の行政による承認の迅速化を目指すこと。

行政、業界団体等(7)、企業(31社)



生殖発生毒性(2004~2009)
約910万ユーロ



皮膚感作性
約1100万ユーロ



日本においても総合科学研究が複数走ることが可能な社会の認識や基盤整備が必要！

OECD法と医薬部外品申請試験における安全性の担保範囲の違い

安全性確保

グレー

有害反応



医薬部外品申請試験
安全性の確保

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（あり方検討会）



OECD法
有害物質の検出

JaCVAM評価委員会
評価会議

OECD法と医薬部外品申請試験における暴露時間の違い (皮膚一次刺激性試験)

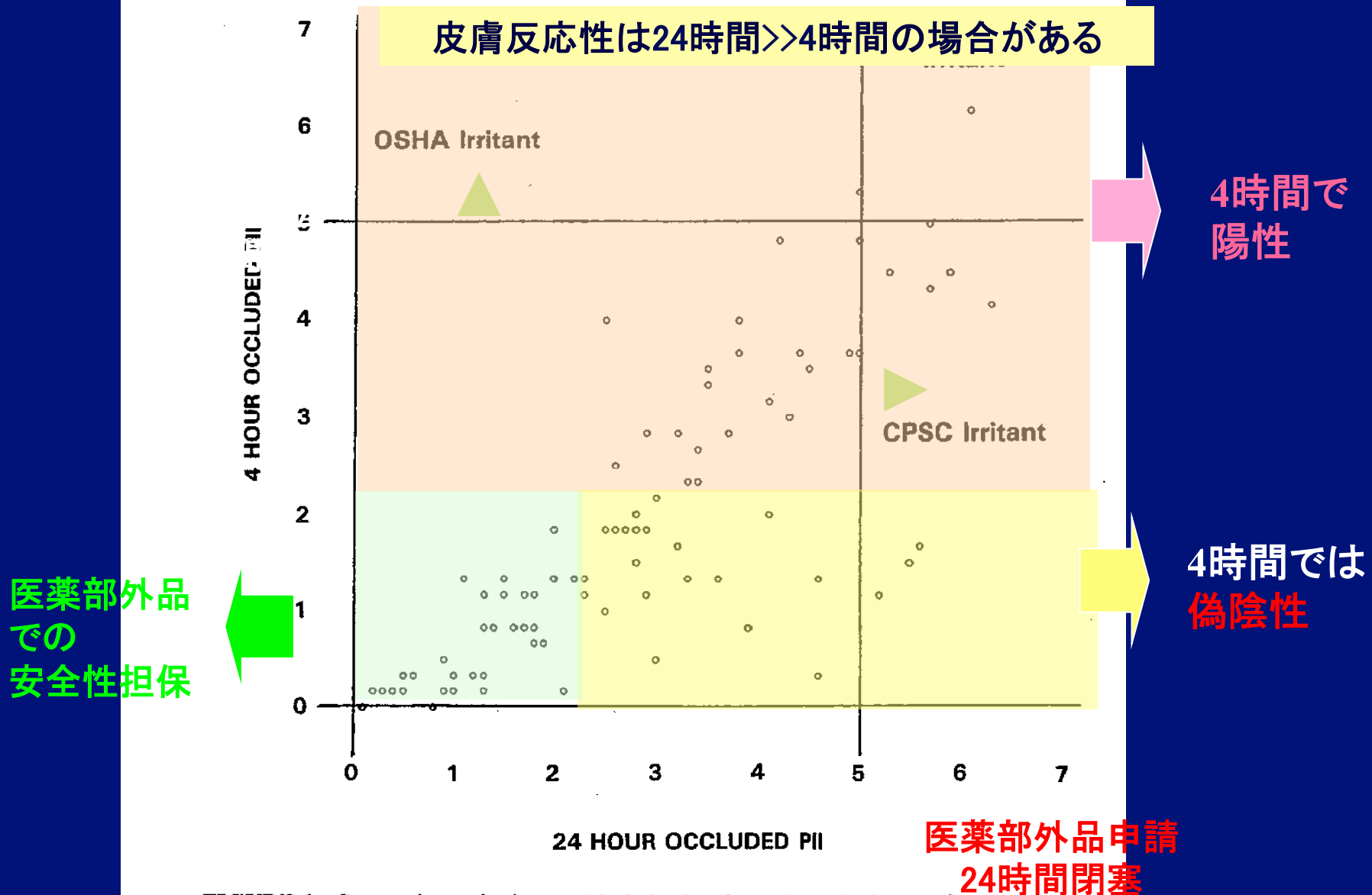


FIGURE 2. Comparison of primary skin irritation from 4 and 24 hours of exposure.

OECDガイドラインの記載内容の変化

In Vitro Skin Irritation: Reconstructed Human *Epidermis* (RhE) Test Method

INITIAL CONSIDERATIONS AND LIMITATIONS

7. A limitation of the Test Guideline

Thus, **regulatory framework in member countries will decide how this Test Guideline will be used.**

When used **as a partial replacement** test, **follow-up *in vivo* testing** may be required to fully characterize skin irritation potential.

It is recognized that the use of human skin is subject to national and international ethical considerations and conditions.



Episkin

代替法をどのように活用するかは各国の行政matter

⇒活用に向けて行政当局との議論が必要！

代替法の記載の実例：皮膚一次刺激性試験

②皮膚一次刺激性試験

試験動物	原則として若齢成熟白色ウサギ、又は若齢成熟白色モルモット
動物数	原則として1群3匹以上
皮膚	除毛健常皮膚。なお、損傷皮膚での用途を訴求する場合、損傷皮膚でも実施する。
投与面積及び用量	皮膚一次刺激性を適切に評価し得る面積及び用量 (面積にもよるが、通常、開放の場合は流れ落ちない程度である0.03mL/2cm×2cm、閉塞貼付の場合は6cm ² (約2.5cm×2.5cm)の部位に液体で0.5ml、固形又は半固形で0.5g程度とし、さらに投与面積に応じて投与量を増減する。)
投与濃度	原則として皮膚一次刺激性を適切にするため、無刺激性を示す濃度が含まれるよう数段階設定する。
投与方法	原則として24時間の開放又は閉塞貼付

投与後の措置	原則として無処置とするが、必要に応じて洗浄等の操作を行ってもよい。
観察	原則として投与後24、48及び72時間に投与部位の肉眼的観測を行う。
試験結果の評価	皮膚一次刺激性を適切に評価し得る採点法により判定する。

皮膚一次刺激性試験の投与濃度については、その成分が有する皮膚一次刺激性について確認し、軽度の刺激性が観察される濃度及び観察されない濃度から、適用濃度での安全性が確認されれば、必ずしも適用濃度の設定は必要ない。比較対象としてすでに医薬部外品又は化粧品に配合されている原料等を用い、相対評価が可能な濃度で試験を実施することにより、適用濃度の設定を必要とせず安全性を確認する方法もある。

また、**in vitro** 試験を実施する場合は、**皮膚腐食性試験(OECD Test Guideline 430,431)**が参考になる。

動物実験に比較して詳細な記載はなし。しかも皮膚腐食性試験の紹介。

➡ **現時点での科学水準を踏まえ、行政当局と業界が代替法の活用に向けた議論が必要！**



代替法開発の現状とOECD法活用の問題点

	試験項目	Testing Ban	Marketing Ban	OECDに採択された in vitro代替法	医薬部外品評価における OECD代替法の問題点
1	単回投与毒性	2009/03	2009/03	なし	
2	皮膚一次刺激性	2009/03	2009/03	EpiSkin EpiDerm SkinEthics (3次元皮膚モデル)	OECD法は4時間適用のため 24時間適用の医薬部外品の 安全性評価には不適
3	連続皮膚刺激性	規定なし	規定なし	なし	
4	皮膚感作性	2009/03	2013/03	なし	
5	光毒性	2004/03	2009/03	3T3 NRU PT (光細胞毒性)	難溶性物質は評価困難
6	光感作性	2009/03	2013/03	なし	
7	眼刺激性	2009/03	2009/03	BCOP(ウシ角膜) ICE(ニワトリ眼球)	強刺激性物質のみ評価できる 試験法であり、医薬部外品の 安全性評価には不適
8	変異原性(小核)	2009/03	2009/03	なし	
9	ヒトパッチ				
10	反復投与毒性	2009/03	2013/03	なし	
11	生殖発生毒性	2009/03	2013/03	なし	
12	吸収・分布・代謝・排泄	2009/03	2013/03	なし	

代替法の開発ステージにおける粧工連・加盟企業の取り組みのまとめ

I. 生体反応の発現機構解析

- ・代替法学会への賛助
- ・加盟企業における研究

II. 生体反応の再構築 モデル試験法の評価

- ・加盟企業における研究

III. 試験法の公的バリデーション

- ・厚労科学研究班や代替法学会の企画への参画

IV. バリデーション結果の評価

- ・JaCVAM評価委員会や評価会議への協力

V. 公的ガイドラインへの採択

- ・あり方検討会への協力

なぜ、代替法の開発が進まなかったのか？（私見）

1 日本では、他の国に比較して動物福祉や代替法開発がライフサイエンス全体に係わる課題であるという社会の認識が低い。

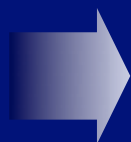
2 日本では、他の国に比較して代替法評価機関（JaCVAM）の位置付け及び組織が脆弱である。

3 日本では、他の国に比較して代替法の公的ガイドライン等への採択の道筋が不透明である。

<厚労科学研究分担研究者、前JaCVAM運営委員（前代替法学会長）としての感想>

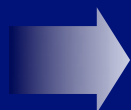
代替法の開発と活用の促進に向けて

1 日本では、他の国に比較して動物福祉や代替法開発がライフサイエンス全体に係わる課題であるという社会の認識が低い。



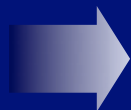
各自が考え、行動すること（今何ができるか、何をすべきか）

2 日本では、他の国に比較して代替法評価機関（JaCVAM）の位置付け及び組織が脆弱である。

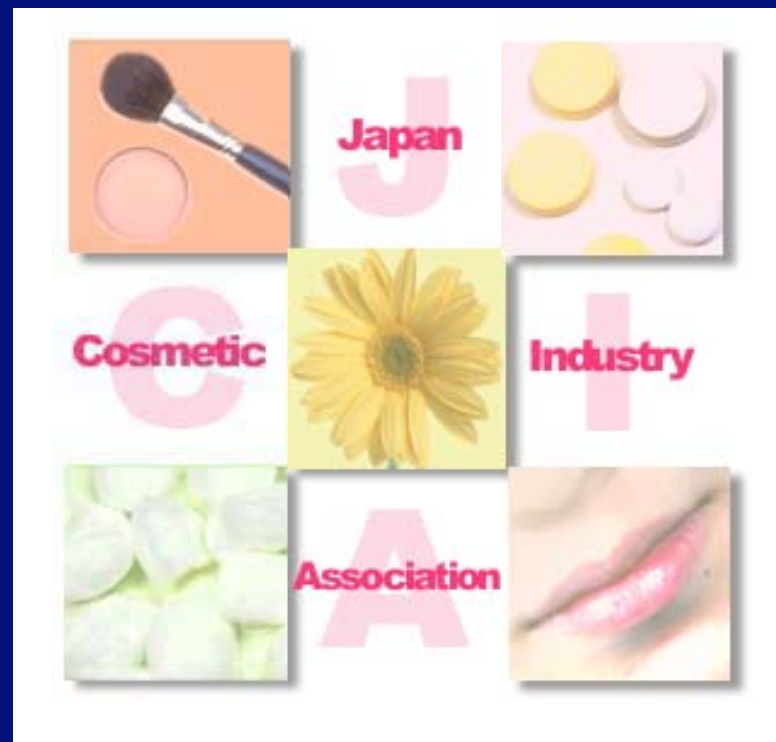


社会のサポート体制を強化すること。

3 日本では、他の国に比較して代替法の公的ガイドライン等への採択の道筋が不透明である。



行政当局と業界が連携して討議すること。



ご清聴ありがとうございました